

Подходы к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин

Л. М. Хантимирова^{1*}, Д. В. Горенков¹, С. Г. Гусева¹, В. А. Меркулов^{1,2}, А. А. Солдатов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет),
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

На сегодняшний день имеются лишь ограниченные данные об опыте клинического применения живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин. В требованиях (рекомендациях) к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований должны учитываться особенности вакцин нового типа с целью дальнейшей оценки соотношения «польза–риск». Цель работы — анализ современных подходов к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин. В статье представлен обзор зарегистрированных и находящихся на различных этапах клинических исследований живых вирусных векторных вакцин. Проведен анализ нормативных документов, касающихся вопросов качества, доклинических и клинических исследований живых вирусных векторных вакцин в Российской Федерации, странах Европейского союза, США и Японии. Установлено, что регуляторные требования к живым рекомбинантным вирусным векторным вакцинам включают оценку подробного обоснования разработки вакцины, в том числе информацию о выборе вектора, источнике происхождения гена (генов) гетерологичного антигена и элементов, имеющих отношение к экспрессии трансгена (трансгенов), оценку генетической и фенотипической стабильности рекомбинантного вируса, риска реверсии вирулентности или рекомбинации со штаммами дикого вируса, оценку возможности интеграции генома вируса в хромосому клетки-хозяина, оценку предсуществующего иммунитета к вектору, оценку напряженности иммунного ответа, вызываемого вектором, и возможности его повторного применения. От перечисленных требований зависит выбор и число различных применимых токсикологических и фармакологических моделей для исследований вакцин. Результаты анализа подходов к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин могут быть полезны при разработке гармонизированных с международными нормами руководств в сфере обращения лекарственных средств в Российской Федерации.

Ключевые слова: вакцины; живые рекомбинантные вирусные векторные вакцины; оценка качества; доклинические исследования; клинические исследования; нормативные документы

Для цитирования: Хантимирова ЛМ, Горенков ДВ, Гусева СГ, Меркулов ВА, Солдатов АА. Подходы к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2021;21(4):212–224. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-4-212-224>
*** Контактное лицо:** Хантимирова Лейсан Маратовна; Khanximirova@expmed.ru

Approaches to quality control, preclinical and clinical studies of live recombinant viral vector vaccines

L. M. Khantimirova^{1*}, D. V. Gorenkov¹, S. G. Guseva¹, V. A. Merkulov^{1,2}, A. A. Soldatov¹

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

At present, there are not much data on the clinical use of live recombinant viral vector vaccines. Characteristics of new vaccines should be factored into requirements/recommendations for quality control, preclinical and clinical studies of vaccines in order to enable further risk/benefit assessment. The aim of this study was to analyse current approaches to quality control, preclinical and clinical studies of live recombinant viral vector vaccines. The paper provides an overview of the licensed live viral vector vaccines and those at various stages of clinical trials. The authors analysed Russian, European, American, and Japanese guidelines related to quality issues, preclinical and clinical studies of live viral vector vaccines. The analysis demonstrated that the regulatory requirements for live recombinant viral vector vaccines include assessment of a detailed rationale for vaccine development, including information on the choice of the vector, the origin of the heterologous antigen gene(s), elements related to the transgene(s) expression, as well as assessment of the genetic and phenotypic stability of the recombinant virus, the risk of reversion to virulence or recombination with wild type strains, the potential for virus genome integration into the host cell chromosome, the pre-existing immunity to the vector, the intensity of the immune response elicited by the vector, and the reusability of the vector. The choice and number of applicable

toxicological and pharmacological models will depend on these aspects. The results of the analysis of approaches to quality control, preclinical and clinical studies of live recombinant viral vector vaccines may be used in the development of Russian regulatory guidelines harmonised with the international norms and regulations.

Key words: vaccines; live recombinant viral vector vaccines; quality control; preclinical studies; clinical studies; guidelines

For citation: Khantimirova LM, Gorenkov DV, Guseva SG, Merkulov VA, Soldatov AA. Approaches to quality control, preclinical and clinical studies of live recombinant viral vector vaccines. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(4):212–224. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-4-212-224>

* **Corresponding author:** Leysan M. Khantimirova; Khantimirova@expmed.ru

Развитие биотехнологии и молекулярной биологии привело к значительному прогрессу в разработке новых типов вакцин для профилактики инфекционных заболеваний, классические (традиционные) вакцины для которых недоступны или недостаточно эффективны. Одним из таких типов вакцин являются живые рекомбинантные вирусные векторные вакцины [1].

Вакцины на основе вирусных векторов, как правило, разрабатывают с целью профилактики инфекционных заболеваний, для которых не существует эффективных вакцин, например таких, как ВИЧ-инфекция, лихорадка Денге, болезнь, вызванная вирусом Эбола (лихорадка Эбола), коронавирусные инфекции, вызванные вирусами SARS-CoV и MERS-CoV, а также в случаях усовершенствования уже существующих вакцин (например, вакцины против туберкулеза). Вирусные векторы, используемые для этих целей, конструируются на основе поксвирусов, аденовирусов, альфа-вирусов, вируса кори, вируса желтой лихорадки, вируса везикулярного стоматита и др.¹

Живые вакцины на основе рекомбинантного вирусного вектора представляют собой живые вирусы (векторы), экспрессирующие гетерологичный антиген (антигены), который может быть получен из вирусов, бактерий, паразитов. Последовательность встраиваемого в вектор гена может кодировать целевой белок или целевые белки одного или нескольких микроорганизмов, а также отдельные фрагменты или антигенные детерминанты (эпитопы) этих белков².

В зависимости от способности к репликации вирусных векторов рекомбинантные вирусные векторные вакцины можно разделить на 2 типа: репликативно-некомпетентные (репликативно-дефектные) и репликативно-компетентные [1].

Вирусные векторы могут быть аттенуированы методом повторных пассажей до такого уровня, при котором они перестают быть репликативно-компетентными (например, модифицированный вирус вакцины Анкара, MVA), или генно-инженерными методами, как правило, удалением генов, ответственных за репликацию, которые ограничивают их репликативную активность менее чем одним циклом (например, в случае со многими аденовирусными векторами). В качестве репликативно-дефектных вирусных векторов также могут выступать непатогенные для человека вирусы (например, векторы на основе авиопоксвирусов)³.

Разработка и создание репликативно-компетентных вирусных векторных вакцин проводятся в основном двумя методами: заменой генов с помощью системы обратной генетики или вставкой дополнительных генов в вирусный геном. Векторные вакцины на основе флавивирусов являются химерными вакцинами, полученными с использованием системы обратной генетики [2].

Предполагается, что рекомбинантные векторные вирусные вакцины будут индуцировать не только гуморальный,

но и клеточный иммунный ответ, так как их механизм действия основан на экспрессии целевого антигена *in vivo* [1].

Несмотря на многообещающие результаты доклинических исследований живых вирусных векторных вакцин, остается ряд серьезных вопросов, касающихся безопасности и эффективности применения вакцин нового типа у человека. Профиль безопасности рекомбинантных вирусных векторных вакцин у новорожденных, беременных и пациентов с ослабленным иммунитетом может отличаться от профиля безопасности у иммунокомпетентных лиц. Репликативно-компетентные рекомбинантные вирусные вакцины несут риски не только для иммунодефицитных лиц, но также для третьих лиц вследствие потенциальной передачи им живого рекомбинантного вируса от вакцинированных лиц. Поэтому следует уделять особое внимание рискам, связанным с распространением вируса вакцинированными лицами [1].

Кроме того, невозможно прогнозировать вирулентность живых рекомбинантных вакцин на основе данных о вирулентности вирусного вектора, даже если вирусный вектор был аттенуирован с целью применения у людей; этот аспект необходимо особенно изучать в доклинических исследованиях безопасности на подходящих моделях животных и в клинических исследованиях⁴.

Таким образом, рекомендации к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований должны учитывать особенности вакцин нового типа с целью дальнейшей адекватной оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску.

Цель работы — анализ современных подходов к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин.

Живые рекомбинантные вирусные векторные вакцины для медицинского применения

На сегодняшний день имеются ограниченные данные об опыте клинического применения живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин. Сведения о зарегистрированных в мире вакцинах на основе рекомбинантных вирусных векторов представлены в таблице 1. Первая вакцина на основе рекомбинантного вирусного вектора была зарегистрирована в Австралии и Таиланде в 2012 г. [3]. Imojev® — живая вирусная векторная вакцина для профилактики японского энцефалита, сконструированная путем вставки нуклеотидных последовательностей, кодирующих белки rгМ и Е вируса японского энцефалита, в геном вируса желтой лихорадки 17D [4, 5]. Вакцина рекомендована к применению у лиц от 9 месяцев (в Таиланде), от 12 месяцев (в Австралии) и старше. Взрослым вакцинацию проводят однократно (бустерное введение через 5 лет после вакцинации), детям и подросткам до 18 лет при необходимости долгосрочной защиты бустерную

¹ Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines_en.pdf

² Там же.

³ Там же

⁴ Там же.

Таблица 1. Живые рекомбинантные вирусные векторные вакцины для медицинского применения (по А. Sakurai [1] с изменениями)
Table 1. Live recombinant viral vector vaccines for human use (adapted from A. Sakurai [1])

Торговое наименование Trade name	Держатель регистрационного удостоверения Marketing authorisation holder	Целевой патоген Target pathogen	Тип вирусного вектора Viral vector type	Конструкция рекомбинантного вируса Recombinant virus construction	Страны, в которых зарегистрирована вакцина Countries where the product is approved
Imojev®	Sanofi Pasteur	Вирус японского энцефалита Japanese encephalitis virus	Репликативно-компетентный Replication-competent	Вирус желтой лихорадки, содержащий гены белков рГМ и Е вируса японского энцефалита Yellow fever virus containing genes of the рГМ and E proteins of Japanese encephalitis virus	Австралия Таиланд Малайзия Филиппины Australia Thailand Malaysia The Philippines
Dengvaxia®	Sanofi Pasteur	Вирус Денге Dengue virus	Репликативно-компетентный Replication-competent	Вирус желтой лихорадки, содержащий гены белков рГМ и Е вируса Денге серотипов 1, 2, 3 и 4 Yellow fever virus containing genes of the рГМ and E proteins of Dengue virus serotypes 1, 2, 3, and 4	Страны ЕС (не все) США Филиппины EU (not all) USA The Philippines
Ervebo	Merck&Co., Inc.	Вирус Эбола Ebola virus	Репликативно-компетентный Replication-competent	Вирус везикулярного стоматита, содержащий ген GP вируса Эбола (Zaire ebolavirus) Vesicular stomatitis virus containing the GP gene of Ebola virus (Zaire ebolavirus)	Демократическая Республика Конго (в рамках программы помощи ВОЗ) Congo (under the WHO compassionate-use programme)
Zabdeno® (Ad26-ZEBOV) Mvabea® (MVA-BN-Filo)	Janssen-Cilag International N.V.	Вирус Эбола Ebola virus	Ad26-ZEBOV (компонент 1 — репликативно-дефектный) MVA-BN-Filo (компонент 2 — репликативно-дефектный) Ad26-ZEBOV (component 1 — replication-deficient) MVA-BN-Filo (component 2 — replication-deficient)	Ad26-ZEBOV — аденовирус 26 серотипа, содержащий ген гликопротеина GP вируса Эбола (Zaire ebolavirus) MVA-BN-Filo — модифицированный вирус вакцины Анкара (MVA), кодирующий гликопротеин GP зaire ebolavirus, нуклеопротеин эболавируса Тай Форест (Tai Forest ebolavirus), а также гликопротеин вируса Марбург (Marburg marburgvirus) Ad26-ZEBOV—adenovirus serotype 26 containing the glycoprotein (GP) gene of Ebola virus (Zaire ebolavirus) MVA-BN-Filo—modified vaccinia Ankara (MVA) virus encoding the Zaire ebolavirus glycoprotein (GP), Sudan ebolavirus GP, Tai Forest ebolavirus nucleoprotein, Marburg virus (Marburg marburgvirus) GP	ЕС EU

Продолжение таблицы 1
Table 1 (continued)

Торговое наименование Trade name	Держатель регистрационного удостоверения Marketing authorisation holder	Целевой патоген Target pathogen	Тип вирусного вектора Viral vector type	Конструкция рекомбинантного вируса Recombinant virus construction	Страны, в которых зарегистрирована вакцина Countries where the product is approved
ГамЭвак GamEvac	ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology	Вирус Эбола Ebola virus	Репликативно-дефектный Replication-deficient	Смесь (1:1) рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц на основе аденовируса 5 серотипа, экспрессирующих ген GP вируса Эбола, и рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц на основе аденовируса 5 серотипа, экспрессирующих ген NP вируса Эбола A mixture (1:1) of recombinant pseudoadenoviral particles based on adenovirus serotype 5, expressing the Ebola virus GP gene, and recombinant pseudoadenoviral particles based on adenovirus serotype 5, expressing the Ebola virus NP gene	Российская Федерация Russian Federation
ГамЭвак-Комби; ГамЭвак-Ллио GamEvac-Combi; GamEvac-Lyo	ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology	Вирус Эбола Ebola virus	Компонент А — репликативно-компетентный Компонент Б — репликативно-дефектный Component A— replication-competent Component B— replication-deficient	Компонент А — вирус везикулярного стоматита, содержащий ген GP вируса Эбола Компонент Б — псевдоаденовирус серотипа 5, содержащий ген GP вируса Эбола Component A—vesicular stomatitis virus containing the GP gene of Ebola virus Component B—pseudoadenovirus serotype 5 containing the GP gene of Ebola virus	Российская Федерация Russian Federation
Гам-КОВИД-Вак Gam-COVID-Vac	ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology	SARS-CoV-2	Компонент I — репликативно-дефектный Компонент II — репликативно-дефектный Component I— replication-deficient Component II— replication-deficient	Компонент I — рекомбинантные аденовирусные частицы 26 серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2 Компонент II — рекомбинантные аденовирусные частицы 5 серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2 Component I—recombinant adenovirus serotype 26 particles containing SARS-CoV-2 S protein gene Component II—recombinant adenovirus serotype 5 particles containing SARS-CoV-2 S protein gene	Российская Федерация Russian Federation
Гам-КОВИД-Вак-Ллио Gam-COVID-Vac-Lyo	ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology	SARS-CoV-2	Компонент I — репликативно-дефектный Компонент II — репликативно-дефектный Component I— replication-deficient Component II— replication-deficient	Компонент I — рекомбинантные аденовирусные частицы 26 серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2 Компонент II — рекомбинантные аденовирусные частицы 5 серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2 Component I—recombinant adenovirus serotype 26 particles containing SARS-CoV-2 S protein gene Component II—recombinant adenovirus serotype 5 particles containing SARS-CoV-2 S protein gene	Российская Федерация Russian Federation

дозу предпочтительно вводить через 1 год (при необходимости возможно введение до 2 лет после первой вакцинации)⁵. Рекомбинантная живая векторная вакцина Dengvaxia® сконструирована путем замены в аттенуированном штамме вируса желтой лихорадки генов, кодирующих белки rГМ и Е, генами, кодирующими антигены четырех типов вируса Денге. Вакцина Dengvaxia® для профилактики лихорадки Денге, вызываемой вирусом Денге серотипов 1, 2, 3, 4, зарегистрирована в странах Европейского союза (ЕС) и США⁶. Вакцина показана к применению у детей и взрослых (от 9 месяцев до 45 лет), переболевших лихорадкой Денге (только в лабораторно подтвержденных случаях) и проживающих в эндемичных регионах [6–8]. Рекомбинантная вирусная векторная вакцина Ervebo против лихорадки Эбола сконструирована на основе вируса везикулярного стоматита, содержащего ген гликопротеина (GP) эболавируса Заир, показана к применению у лиц старше 18 лет (одобрена Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (FDA) и Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) в 2019 г.)⁷ [9–13].

В 2020 г. EMA были выданы регистрационные удостоверения на лекарственные препараты, которые применяются по двухкомпонентной схеме вакцинации: Zabdeno® (Ad26.ZEBOV) как первый компонент и Mvabea® (MVA-BN-Filo) в качестве второго компонента. Вакцина предназначена для профилактики заболевания, вызываемого эболавирусом Заир, лиц старше одного года. Схема включает применение Ad26.ZEBOV в качестве первого компонента, созданного на основе запатентованной компанией Janssen-Cilag технологии вирусного вектора на основе аденовируса 26 серотипа, кодирующего ген гликопротеина GP вируса Эбола (*Zaire ebolavirus*)⁸, и MVA-BN-Filo в качестве второго компонента на основе модифицированного вируса вакцины Анкара (MVA), кодирующего гены гликопротеинов заирского (*Zaire ebolavirus*) и суданского эболавирусов (*Sudan ebolavirus*), нуклеопротеина эболавируса Тай Форест (*Tai Forest ebolavirus*), а также гликопротеина вируса Марбург (*Marburg marburgvirus*), второй компонент необходимо вводить через 8 недель после первой инъекции⁹ [14–18].

В Российской Федерации зарегистрированы три векторные вакцины против лихорадки Эбола производства ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России: ГамЭвак, ГамЭвак-Комби и ГамЭвак-Лио¹⁰. В вакцине ГамЭвак действующим веществом является смесь (1:1) рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц на основе аденовируса 5 серотипа, экспрессирующих ген GP вируса Эбола, и рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц на основе того же типа аденовируса, экспрессирующих ген нуклеопротеина (NP) вируса

Эбола. В вакцинах ГамЭвак-Комби и ГамЭвак-Лио компонент А представляет собой рекомбинантные частицы на основе вируса везикулярного стоматита, экспрессирующие ген GP вируса Эбола, компонент Б — рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы на основе аденовируса 5 серотипа, экспрессирующие ген GP вируса Эбола. Вакцина показана к применению у взрослых [19–22].

В Российской Федерации по процедуре регистрации препаратов, предназначенных для применения в условиях угрозы возникновения и ликвидации чрезвычайных ситуаций, зарегистрированы рекомбинантные вирусные векторные вакцины с двухкомпонентной схемой вакцинации для профилактики коронавирусной инфекции COVID-19: Гам-КОВИД-Вак (компонент I и компонент II) и Гам-КОВИД-Вак-Лио (компонент I и компонент II)¹¹ [23]. Действующим веществом компонента I являются рекомбинантные аденовирусные частицы 26 серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2, компонента II — рекомбинантные аденовирусные частицы 5 серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2. Вакцина показана к применению у взрослых в возрасте 18–60 лет¹².

Руководства, регламентирующие требования к качеству, безопасности и эффективности живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин в Российской Федерации, странах ЕС, США и Японии

В настоящее время в Российской Федерации проведение доклинических исследований иммунобиологических лекарственных препаратов регламентируется Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Иммунобиологические лекарственные препараты)¹³. При проведении КИ разработчикам рекомендуется учитывать положения Руководства по проведению клинических исследований¹⁴. Оценка качества проводится в соответствии с требованиями общих фармакопейных статей (ОФС) Государственной фармакопеи Российской Федерации, ОФС.1.7.1.0018.18 Иммунобиологические лекарственные препараты¹⁵, ОФС.1.7.1.0004.15 Вакцины и анатоксины¹⁶. Отдельные требования (рекомендации), регламентирующие оценку качества, безопасности и эффективности живых вирусных векторных вакцин, в России отсутствуют.

Руководства ВОЗ по разработке живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин в настоящее время отсутствуют, вместе с тем опубликован Отчет ВОЗ о консультативной встрече по вопросам характеристик и контроля качества вакцин

⁵ https://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/PQ_277_JE_4dose_SP_PI.pdf

<https://www.tga.gov.au/sites/default/files/auspar-japanese-encephalitis-vaccine-140203-pi.pdf>

⁶ https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dengvaxia-epar-product-information_en.pdf

<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/dengvaxia>

⁷ https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ervebo-epar-product-information_en.pdf

<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/ervebo>

⁸ https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zabdeno-epar-product-information_en.pdf

⁹ https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2020/20200701148533/anx_148533_en.pdf

Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 4–5 December 2019. Wkly Epidem Rec. 2020;95:28–30.

¹⁰ <https://grls.rosminzdrav.ru>

¹¹ Там же.

¹² Там же.

¹³ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2. М.: Гриф и К; 2013.

¹⁴ Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2. М.: Гриф и К; 2012.

¹⁵ Общая фармакопейная статья 1.7.1.0018.18 Иммунобиологические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

¹⁶ Общая фармакопейная статья 1.7.1.0004.15 Вакцины и анатоксины. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

Таблица 2. Нормативные документы, регламентирующие особенности оценки качества, проведения доклинических и клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин (по Y. Nakayama [3] с изменениями)
Table 2. Regulatory guidelines for quality control, preclinical and clinical studies of live recombinant viral vector vaccines (adapted from Y. Nakayama [3])

Регуляторный орган Regulatory agency	Документы, регламентирующие особенности оценки качества, проведения доклинических и клинических исследований Guidelines for quality control, preclinical and clinical studies	Источник Reference
Европейское агентство по лекарственным средствам, ЕС European Medicines Agency, EU	- Руководство по качеству, доклиническим и клиническим исследованиям живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин - Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines	Сноска ^a Footnote ^a
ВОЗ WHO	- Нормативные документы не разработаны - Отчет ВОЗ о консультативной встрече по вопросам характеристики и контроля качества вакцин на основе живых вирусных векторов - No specific recommendations - Meeting report. WHO informal consultation on characterization and quality aspect of vaccines based on live viral vectors	Сноска ^b Footnote ^b
Министерство здравоохранения, труда и социального обеспечения, Япония Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan	- Нормативные документы в разработке - Документ о текущих нормативных требованиях к рекомбинантным вирусным вакцинам - Specific recommendations under development - Concept paper on the current regulatory requirements for recombinant viral vaccines	Сноска ^c Footnote ^c
Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств, США Food and Drug Administration, USA	- Нормативные документы не разработаны - Руководство по производству. Характеристика и квалификация клеточных субстратов и других биологических материалов, используемых при производстве вирусных вакцин для профилактики инфекционных заболеваний - No specific recommendations - Guidance for industry. Characterization and qualification of cell substrates and other biological materials used in the production of viral vaccines for infectious disease indications	Сноска ^d Footnote ^d

^a Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines>

^b Meeting Report. WHO informal consultation on characterization and quality aspect of vaccines based on live viral vectors. 4-5 December 2003. Geneva, Switzerland; 2003. https://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/typhus/viral_vectors/en/

^c RVVRG. Concept paper (in Japanese). <https://www.pmda.go.jp/files/000226581.pdf>

^d Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications. Guidance for Industry. FDA; 2010. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/characterization-and-qualification-cell-substrates-and-other-biological-materials-used-production>

на основе вирусных векторов¹⁷, в котором содержится информация об опыте доклинических и клинических исследований и рекомендации о необходимости разработки такого руководства (табл. 2).

В США также отсутствует руководство по доклинической и клинической оценке живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин. Однако следует отметить, что отделом исследования и обзора вакцин в Центре оценки и исследований в области биологических препаратов FDA (OVRRC/CDER/FDA) в 2010 г. был опубликован документ по контролю качества (производства) вакцин на основе живых аттенуированных вирусов, инактивированных (убитых) цельновирионных или субъединичных вакцин, очищенных рекомбинантных белков, синтетических антигенов и живых вирусных векторов, экспрессирующих специфические гетерологичные вакцинные антигены¹⁸.

В странах ЕС в качестве общего руководства для оценки вакцин применяются Руководства ВОЗ¹⁹. В 2009 г. Европейское агентство по лекарственным средствам (EMA) опубликовало руководство (EMA/CHMP/VWP/141697/2009²⁰), в котором изложены требования к качеству, доклиническим и клиническим исследованиям живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин. С 2011 г. со дня вступления в силу в странах ЕС, данное руководство не пересматривалось и по настоящее время является единственным актуальным документом, содержащим требования к этим вакцинам.

В Японии в 2018 г. исследовательская группа по качеству и безопасности рекомбинантных вирусных вакцин, организованная под эгидой Министерства здравоохранения, труда и социального обеспечения Японии (MHLW), опубликовала документ о текущих нормативных требованиях к рекомбинантным вирусным вакцинам²¹ [1].

¹⁷ Meeting Report. WHO Informal Consultation on Characterization and Quality aspect of vaccines based on live viral vectors. 4-5 December 2003. Geneva, Switzerland; 2003. https://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/typhus/viral_vectors/en/

¹⁸ Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications. Guidance for Industry. FDA; 2010. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/characterization-and-qualification-cell-substrates-and-other-biological-materials-used-production>

¹⁹ WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. WHO Technical Report Series No. 927; 2005.

Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. WHO Technical Report Series No. 1004; 2017. <https://www.who.int/publications/m/item/WHO-TRS-1004-web-annex-9>

²⁰ Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines>

²¹ RVVRG. Concept paper (in Japanese). <https://www.pmda.go.jp/files/000226581.pdf>

Особенности оценки качества живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин

В соответствии с требованиями Руководства ЕМА²² оценка качества рекомбинантных вирусных векторных вакцин должна включать:

- подробное обоснование разработки вакцины, включая информацию о выборе вектора, источнике происхождения гена (генов) гетерологичного антигена и элементах, имеющих отношение к экспрессии трансгена (трансгенов);
- описание свойств посевных материалов рекомбинантного вируса (главного посевного материала, ГПМ, и рабочего посевного материала, РПМ);
- описание и валидацию производственного процесса;

- контроль качества готового лекарственного препарата.
- Согласно Руководству ЕМА²³ при оценке качества следует соблюдать требования, содержащиеся в общей монографии 07/2021:0153 Европейской фармакопеи (ЕФ) по вакцинам для медицинского применения²⁴. Кроме того, для рекомбинантных вирусных векторных вакцин, несмотря на то что они не являются препаратами генной терапии и в них не используются векторы, описываемые в общей главе ЕФ 04/2019:51400 по препаратам генной терапии для медицинского применения²⁵, в Руководстве ЕМА указано на необходимость учитывать требования данной главы ЕФ. В таблице 3 представлены показатели качества для препаратов генной терапии для медицинского применения на основе аденовирусных и поксвирусных векторов в соответствии с требованиями ЕФ²⁶.

Таблица 3. Требования к качеству, применяемые к препаратам генной терапии для медицинского применения на основе аденовирусного и поксвирусного векторов, в соответствии с требованиями Европейской фармакопеи²⁷
Table 3. Quality control of adenovirus-based and poxvirus-based gene therapy medicinal products, in accordance with the requirements of the European Pharmacopoeia²⁷

Стадии производства Manufacturing process stages	Требования к качеству Quality control	
	для аденовирусных векторов, используемых в препаратах генной терапии for adenovirus vectors used in gene therapy medicinal products	для поксвирусных векторов, используемых в препаратах генной терапии for poxvirus vectors used in gene therapy medicinal products
Конструирование вектора Vector construction	Генетическая и фенотипическая стабильность вектора Genetic and phenotypic stability of the vector	
Приготовление клеточного субстрата (клетки-продуценты) для продукции вектора Cell substrate for vector production	Перевиваемая клеточная линия Continuous cell lines	<ul style="list-style-type: none"> - диплоидные клетки человека; - перевиваемая клеточная линия; - клетки куриных эмбрионов - human diploid cells; - continuous cell lines; - chick-embryo cells
Приготовление посевного материала Preparation of the seed lot	На этапе должны быть определены: <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - генетические и фенотипические характеристики; - концентрация вектора или инфекционный титр вирусного вектора; - посторонние агенты; - наличие репликационно-компетентных аденовирусов (в случаях, где применимо) At this stage the following is determined: <ul style="list-style-type: none"> - identification; - genetic and phenotypic characteristics; - vector concentration or viral vector infectious titer; - extraneous agents; - replication-competent adenoviruses (where applicable) 	На этапе должны быть определены: <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - генетические и фенотипические характеристики; - инфекционный титр вирусного вектора; - посторонние агенты At this stage the following is determined: <ul style="list-style-type: none"> - identification; - genetic and phenotypic characteristics; - viral vector infectious titer; - extraneous agents
Получение вирусного сбора Virus harvest production	На этапе должны быть определены: <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - концентрация вектора и инфекционный титр вирусного вектора; - посторонние агенты; - контроль клеток по показателям «Подлинность» и «Посторонние агенты» At this stage the following is determined: <ul style="list-style-type: none"> - identification; - vector concentration or viral vector infectious titer; - extraneous agents; - quality control of cells in terms of identification and extraneous agents 	На этапе должны быть определены: <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - инфекционный титр вирусного вектора; - посторонние агенты; - контроль клеток At this stage the following is determined: <ul style="list-style-type: none"> - identification; - viral vector infectious titer; - extraneous agents; - quality control of cells

²² Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines>

²³ Там же.

²⁴ 07/2021:0153 Vaccines for Human Use. European Pharmacopoeia 10th ed; 2021.

²⁵ 04/2019:51400 5.14 Gene Transfer Medicinal Products for Human Use. European Pharmacopoeia 10th ed; 2020.

²⁶ Там же.

²⁷ Там же.

Стадии производства Manufacturing process stages	Требования к качеству Quality control	
	для аденовирусных векторов, используемых в препаратах генной терапии for adenovirus vectors used in gene therapy medicinal products	для поксвирусных векторов, используемых в препаратах генной терапии for poxvirus vectors used in gene therapy medicinal products
Очистка вирусного сбора Virus harvest purification	<p>На этапе должны быть определены:</p> <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - целостность генома; - концентрация векторного вируса; - остаточные белки клетки-хозяина; - остаточная ДНК клетки-хозяина; - вносимые вещества, в том числе вносимые в препарат антибиотики (при отсутствии данных о валидации очистки продукта) <p>At this stage the following is determined:</p> <ul style="list-style-type: none"> - identification; - genomic integrity; - viral vector concentration; - residual host-cell proteins; - residual host-cell DNA; - residual reagents including residual antibiotics (in the absence of validation data on the degree of product purification) 	<p>На этапе должны быть определены:</p> <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - целостность генома; - инфекционный титр вирусного вектора; - отношение инфекционного титра вектора к концентрации общего белка; - остаточные белки клетки-хозяина; - остаточная ДНК клетки-хозяина; - вносимые вещества, в том числе вносимые в препарат антибиотики (при отсутствии данных о валидации очистки продукта) <p>At this stage the following is determined:</p> <ul style="list-style-type: none"> - identification; - genomic integrity; - viral vector infectious titer; - ratio of vector infectious titer to total protein concentration; - residual host-cell proteins; - residual host-cell DNA; - residual reagents including residual antibiotics (in the absence of validation data on the degree of product purification)
Получение готового нерасфасованного продукта Final bulk production	Стерильность Sterility	
Получение готового лекарственного препарата Final lot production	<p>На этапе должны быть определены:</p> <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - pH; - вода; - извлекаемый объем; - осмоляльность; - концентрация вирусных векторных частиц; - инфекционный титр вирусного вектора; - соотношение концентрации вирусных векторных частиц к инфекционному титру вирусного вектора; - экспрессия генетического материала в препарате; - специфическая (биологическая) активность; - стерильность; - бактериальные эндотоксины; - бычий сывороточный альбумин (при использовании в процессе производства); - концентрация репликационно-компетентных аденовирусов; - агрегация вирусного вектора; - термическая стабильность <p>At this stage the following is determined:</p> <ul style="list-style-type: none"> - identification; - pH; - residual moisture; - extractable volume; - osmolality; - viral vector particle concentration; - viral vector infectious titer; - ratio of viral vector particle concentration to viral vector infectious titer; - expression of the genetic insert in the product; - specific (biological) activity; - sterility; - bacterial endotoxins; - bovine serum albumin (where bovine serum is used during production); - replication-competent adenovirus concentration; - viral vector aggregates; - thermal stability 	<p>На этапе должны быть определены:</p> <ul style="list-style-type: none"> - подлинность; - pH; - вода; - извлекаемый объем; - осмоляльность; - инфекционный титр вирусного вектора; - экспрессия генетического материала в препарате; - специфическая (биологическая) активность; - стерильность; - бактериальные эндотоксины; - бычий сывороточный альбумин (при использовании в процессе производства); - термическая стабильность <p>At this stage the following is determined:</p> <ul style="list-style-type: none"> - identification; - pH; - residual moisture; - extractable volume; - osmolality; - viral vector infectious titer; - expression of the genetic insert in the product; - specific (biological) activity; - sterility; - bacterial endotoxins; - bovine serum albumin (where bovine serum is used during production); - thermal stability

Для рекомбинантных вирусных векторных вакцин должно быть представлено подробное обоснование разработки вакцины в соответствии со стадиями производства (табл. 3).

Стадия конструирования вектора. При описании разработки вакцины необходимо включать информацию о выборе вектора, источнике происхождения гена (генов) гетерологичного антигена и регуляторных генетических элементах для экспрессии целевого генетического материала. Также следует подробно описать все генно-инженерные манипуляции, например сайт-специфические мутации, вставки, делеции и/или перестройки в любом компоненте в сравнении с его естественным эквивалентом. Если в конструкции вакцины входят транскрипционные или трансляционные элементы для регуляции (например, временной или тканеспецифической) экспрессии трансгена, необходимо предоставить фактическое подтверждение подобной специфичности на основе результатов описания свойств препарата и данных его контроля.

Стадия приготовления клеточного субстрата (клеток-продуцентов) для продукции вектора. При оценке качества вакцины следует описать клеточный субстрат, используемый для культивирования и/или сборки вируса. Описание должно включать историю клеточной линии, условий ее культивирования в процессе производства вакцины, а также ее подлинность и свойства. При работе с клеточными культурами особое внимание должно уделяться предотвращению перекрестной контаминации другими клетками или вирусами и контаминации посторонними агентами²⁸. Для «пакующих» клеточных линий следует указывать подробные данные о векторной конструкции, включая природу и расположение желперной (вспомогательной) вирусной нуклеиновой кислоты, и кодируемых ею белках, их функция.

Стадия приготовления посевного материала (ГПМ и РПМ). Серии посевного материала готовят посредством пассирования рекомбинантного вируса в клеточном субстрате, используемом при производстве вакцины. Характер описания свойств посевного материала зависит от ряда факторов, в том числе от природы вирусного вектора, происхождения и природы гетерологичного гена (генов), природо-генетических модификаций, истории субстрата, используемого для получения посевного материала, применения клональной селекции и природы реагентов, используемых для получения посевных материалов. Описание свойств ГПМ включает описание генетических и фенотипических свойств вакцинного вируса, сравнение с исходным вектором, особенно в тех случаях, когда модификация вектора может влиять на аттенуацию, патогенность, тропизм к ткани или видоспецифичность вакцинного вируса в сравнении с исходным вектором. Описание генетических свойств должно включать

анализ нуклеотидной последовательности вакцинного вируса; полезным дополнением могут служить рестрикционное картирование, саузэрн-блоттинг, анализ ПЦР или ДНК-фингерпринтинг. Следует описать отдельные регуляторные элементы, задействованные в экспрессии гетерологичного гена (генов). Требуется подтверждение генетической стабильности посевного материала²⁹. При описании фенотипических свойств основное внимание следует уделять маркерам аттенуации/модификации, экспрессии гетерологичного антигена (антигенов) в *in vitro* и *in vivo* условиях, позволяющих детектировать ревертанты. Кроме того, описание свойств также должно включать другие исследования, в том числе антигенный анализ, инфекционный титр вируса, количество вирусных частиц, урожай вируса *in vitro* и характеристики роста вируса *in vivo* на подходящей животной модели. Для некоторых вакцин в дополнение или вместо определения инфекционного титра должно определяться количество вирусных частиц. Следует подробно описать прогнозируемый жизненный цикл ГПМ и РПМ для изготовления вакцины и предполагаемую периодичность получения новых рабочих посевных материалов. Следует предоставить информацию об условиях хранения посевных материалов и об их стабильности в течение срока хранения³⁰. Если для получения ГПМ и РПМ используются материалы животного происхождения, следует соблюдать требования, изложенные в Руководстве по минимизации риска передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных через лекарственные препараты медицинского и ветеринарного применения³¹, а также требования руководства ЕС по использованию сыворотки крупного рогатого скота³².

Вакцину следует получать из РПМ с минимальным числом промежуточных пассажей. Число пересевов из РПМ не должно превышать число пассажей, имевших место при производстве вакцины, которая была признана удовлетворительной в ходе клинических исследований. В производстве могут использоваться различные субстраты, в том числе первичные клетки, диплоидные клетки, перевиваемые клеточные линии и развивающиеся куриные эмбрионы. Диплоидные клетки и перевиваемые клеточные линии должны соответствовать требованиям главы 5.2.3 ЕФ³³. Следует также учитывать положения Рекомендаций ВОЗ³⁴. За исключением первичных культур клеток куриных эмбрионов, следует избегать использования первичных клеток, в противном случае их использование должно быть надлежащим образом обосновано. Общие рекомендации по использованию первичных клеточных культур приведены в Приложении 1 к документу ICH Q5D³⁵. Стада кур, используемые в качестве источника клеток куриных эмбрионов, должны соответствовать требованиям общей главы 5.2.2 ЕФ³⁶. Если в производстве используются трансформированные клетки,

²⁸ Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines>

²⁹ Там же.

³⁰ Там же.

³¹ Minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products (EMA/410/01 Rev. 3). <https://www.ema.europa.eu/en/minimising-risk-transmitting-animal-spongiform-encephalopathy-agents-human-veterinary-medicinal>

³² Guideline on the use of bovine serum in the manufacture of human biological medicinal products (EMA/CHMP/BWP/457920/2012 rev 1). EMA; 2013. <https://www.ema.europa.eu/en/use-bovine-serum-manufacture-human-biological-medicinal-products>

³³ 5.2.3. Cell substrates for the production of vaccines for human use. European Pharmacopoeia 10th ed; 2020.

³⁴ Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks. WHO Technical Report Series No. 978; 2013 https://www.who.int/biologicals/vaccines/TRS_978_Annex_3.pdf?ua=1

³⁵ ICH Topic Q5D. Note for guidance on quality of biotechnological products: derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products (CPMP/ICH/294/95). EMA; 1998. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-5-d-derivation-characterisation-cell-substrates-used-production-biotechnological/biological-products-step-5_en.pdf

³⁶ 5.2.2. Chicken flocks free from specified pathogens for the production and control of vaccines. European Pharmacopoeia 10th ed; 2020.

следует учитывать требования соответствующих разделов руководства ICH Q5D³⁷.

Стадия получения вирусного сбора. Для вирусного сбора следует проводить испытание по показателю «Подлинность», которое должно включать испытание на подлинность экспрессируемого гетерологичного антигена и векторного вируса³⁸. Титр вируса следует определять при помощи валидированного метода, желательнее, чтобы инфекционный титр выражался в показателе средней инфекционной дозы для клеточной культуры (cell culture infectious dose, CCID₅₀) или бляшкообразующих единицах (БОЕ). Следует утвердить минимальные допустимые титры, позволяющие использовать отдельный сбор вируса в приготовлении объединенного вирусного сбора или готового нерасфасованного продукта. Для каждого отдельного сбора должны быть проведены испытания по показателю «Посторонние агенты». Для некоторых репликационно-дефектных вакцинных вирусов, например вакцин на основе репликационно-дефектных аденовирусных векторов, могут понадобиться испытания по показателю «Репликационно-компетентные вирусы». Для отдельных вирусных сборов также должны проводиться испытания по показателям «Стерильность» и «Отсутствие микоплазм».

Стадия получения готового нерасфасованного продукта. Из объединенных вирусных сборов (одного или нескольких) изготавливают готовый нерасфасованный продукт. Следует описать стратегию, используемую для объединения отдельных вирусных сборов при получении вакцины. Для объединенных вирусных сборов необходимо проводить испытания по показателю «Стерильность». Добавление антибиотиков в качестве antimicrobial консервантов, как правило, неприемлемо³⁹. Для препаратов в многдозовой упаковке необходимо представить обоснование использования antimicrobial консерванта с учетом возможной контаминации препарата во время его использования и максимального рекомендованного срока использования после вскрытия первичной упаковки или восстановления вакцины. При изготовлении готовой лекарственной формы (ГЛФ) вакцины необходимо учитывать частичную потерю инфекционного титра вируса во время розлива, лиофилизации и хранения.

Стадия получения готового лекарственного препарата (вакцины). Образцы каждой серии готовой вакцины должны проходить испытания по показателям «Стерильность», «Подлинность» и «Специфическая активность»⁴⁰. Следует также проводить испытание по показателю «Термическая стабильность». Результаты анализа производственных серий по показателю «Бактериальные эндотоксины» должны укладываться в утвержденные нормы. Для лиофилизированных вакцин следует проводить испытание по показателю «Вода»⁴¹. Испытания готовой вакцины должны включать испытания по показателям «Остаточные белки клетки-хозяина», «Вносимые вещества»,

«Остаточные белки сыворотки животных» (например, «Бычий сывороточный альбумин»), полученные значения должны находиться в пределах, установленных в спецификации. При использовании в производстве перевиваемой клеточной линии необходимо проводить испытание по показателю «Остаточная ДНК клетки-хозяина»⁴². Если эти испытания проводились для готовой нерасфасованной вакцины и результаты были удовлетворительными, то испытание можно не проводить для готового препарата.

Следует определять специфическую активность каждой серии готовой вакцины. Должно быть проведено определение инфекционного титра вирусного вектора. В некоторых случаях более целесообразным является определение числа вирусных частиц в качестве дополнительного или единственного испытания. Если проводится определение и инфекционного титра вирусного вектора, и числа векторных вирусных частиц, можно определить соотношение между этими показателями, которое необходимо включить в спецификацию для выпуска готового препарата. В других случаях определение специфической активности может основываться на детекции экспрессии гетерологичного антигена *in vitro* или определении иммуногенности *in vivo*. Значение показателя активности, включаемое в спецификацию для выпуска готового препарата, должно быть обосновано с использованием данных доклинических и/или клинических исследований, полученных для разрабатываемой вакцины⁴³.

Особенности доклинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин

К живым вакцинам на основе рекомбинантных вирусных векторов применимы рекомендации руководства ВОЗ по доклинической оценке вакцин⁴⁴. Доклинические исследования безопасности и иммунологической эффективности должны проводиться с использованием адекватной модели животных. При выборе животных для проведения исследований безопасности и эффективности вакцины необходимо, если это возможно, чтобы восприимчивость животных к инфекционному агенту и патогенез инфекционного процесса были максимально близки к таковым у человека. Кроме того, выбранная животная модель должна быть восприимчивой к вирусному вектору, который используется при разработке вакцины, т.е. уровень его репликации, вирулентность и биораспределение в организме животного должны быть максимально похожи на прогнозируемые при применении у людей. Исследования безопасности и защитных свойств (протективности) вакцины, если это возможно, следует проводить на одной и той же животной модели.

Требуется проведение анализа предсуществующего иммунитета, поскольку он может оказать влияние на результаты доклинических и клинических исследований. С одной стороны, это связано с тем, что иммунный ответ, не обеспечивающий

³⁷ Note for guidance on quality of biotechnological products: derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products (CPMP/ICH/294/95). EMA; 1998. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-5-d-derivation-characterisation-cell-substrates-used-production-biotechnological/biological-products-step-5_en.pdf

³⁸ Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines>

³⁹ Там же.

⁴⁰ Там же.

⁴¹ Там же.

⁴² Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks. WHO Technical Report Series No. 978; 2013 https://www.who.int/biologicals/vaccines/TRS_978_Annex_3.pdf?ua=1

⁴³ Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines>

⁴⁴ WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. WHO Technical Report Series No. 927; 2005. https://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/nonclinical_evaluation/ANNEX%20Nonclinical.P31-63.pdf?ua=1

защиту от инфекции, может изначально присутствовать в организме в связи с перекрестной реактивностью к родственному или дикому вариантам вектора и/или к источнику гена-вставки — целевого антигена. С другой стороны, после иммунизации животных, которые являются «наивными» к вакцинному вирусу-вектору и целевому антигену, могут возникнуть непредвиденные реакции, связанные с безопасностью, что потребует проведения дополнительных доклинических исследований безопасности. Исследования по оценке иммуногенности следует проводить на животных, характеризующихся наиболее адекватным иммунным ответом на исследуемую вакцину. В случае отсутствия подходящей животной модели следует учесть эти аспекты в клинических исследованиях, особенно в исследованиях профилактической эффективности.

Исследование фармакодинамики. Данные по оценке иммуногенности на релевантных видах животных должны быть получены до начала клинических исследований. Исследования иммуногенности должны включать количественную и качественную оценку иммунного ответа с учетом дозы и схемы введения вакцины. Исследования иммуногенности должны предусматривать оценку гуморального, клеточно-опосредованного и врожденного иммунного ответа как в отношении целевого антигена, так и в отношении вирусного вектора, поскольку последний вносит вклад в иммунный ответ на вакцину и получение этих данных необходимо для оценки возможности повторного применения вирусного вектора в составе другой вакцины. Следует оценить корреляцию между уровнем антител и другими звеньями иммунного ответа (например, изменения цитокинового профиля) и уровнем защиты от инфекции. Это ключевые данные, которые должны быть получены на стадии разработки препарата⁴⁵. Следует принимать во внимание предсуществующий иммунный ответ к вирусному вектору и/или целевому (гетерологичному) антигену в составе векторной вакцины.

Исследование токсичности при однократном и многократном введении. При разработке стратегии испытаний следует использовать гибкий, научно обоснованный принцип доклинической оценки безопасности. Оценка токсичности как при однократном, так и при многократном введении следует проводить с препаратом сравнения⁴⁶. Необходимо также предоставить информацию по исследованиям в отношении собственно вектора без вставки целевого антигена. В случае если в исследованиях токсичности при многократном введении обнаружено, что иммунитет к вектору влияет на иммунный ответ при введении последующих доз вакцины, тем самым ставя под сомнение результаты данного исследования, возможно проведение исследования токсичности только при однократном введении.

Исследование биораспределения. Следует проводить исследования биораспределения живого рекомбинантного вакцинного вируса во всех тканях и органах. Исследование биораспределения может включать изучение вирусовыделения, определения вирусных антигенов или вирусного генетического материала. Прохождение через гематоэнцефалический барьер может свидетельствовать о потенциальной нейровирулентности⁴⁷.

Исследование репродуктивной и онтогенетической токсичности. Изучение репродуктивной токсичности требуется

в случае, если предполагается применять вакцину у беременных и кормящих женщин. В случае если в исследованиях биораспределения была показана вероятность репликации вируса в органах репродуктивной системы, требуется проведение исследований репродуктивной токсичности⁴⁸.

Исследование местной переносимости. Необходимо проводить исследования местной переносимости. Данное исследование можно сочетать с другими исследованиями токсичности. Препарат вводят тем способом и в дозе, которая предполагается для использования у человека.

Особенности проведения клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин

Иммуногенность векторной вакцины. Гуморальные и клеточные иммунные ответы на экспрессируемый чужеродный антиген (антигены) и на вирусный вектор следует исследовать на как можно более раннем этапе программы клинических исследований⁴⁹. Масштаб исследований будет зависеть от результатов доклинических исследований и имеющейся информации о векторе, если он ранее использовался в других вакцинах [1].

При оценке иммуногенности векторной вакцины необходимо представить данные:

- о предсуществующем иммунном ответе к вирусному вектору (например, связанном с естественным контактом с вирусами, на основе которых был сконструирован вектор, при этом иммунный ответ может сильно отличаться в разных географических регионах и группах риска; или связанном с предшествующим введением вакцины, содержащей тот же самый вирусный вектор или его компоненты; или связанном с антителами матери);
- о природе иммунного ответа на вирусный вектор (например, нейтрализующие антитела и антитела, не обладающие нейтрализующей активностью, клеточно-опосредованный иммунитет и изучение длительности иммунитета; при необходимости проведение исследований продолжат также в пострегистрационном периоде);
- о корреляции (положительной или отрицательной) между иммунными ответами на вирусный вектор и на экспрессируемый гетерологичный антиген (антигены) на основе научного обоснования полученных результатов (представление доказательств);
- об общих иммунологических эффектах, вызванных одновременным или последовательным введением вакцин на основе вирусных векторов, в которых используется один и тот же вектор, но экспрессируются разные чужеродные белки (в случае если применимо).

Оценка безопасности. Оценка безопасности должна проводиться начиная с как можно более раннего этапа программы клинических исследований и продолжаться на всем ее протяжении, включая, в случае необходимости, пострегистрационный период. Некоторые вопросы, требующие рассмотрения, относятся ко всем живым вакцинам.

Масштаб исследований будет зависеть от данных по оценке качества, результатов доклинических исследований и уже имеющейся информации о векторе, если он ранее использовался в составе других вакцин. Исследования безопасности необходимо проводить с учетом известных свойств вектора.

При оценке безопасности векторной вакцины должны быть рассмотрены следующие вопросы⁵⁰:

⁴⁵ Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009). EMA; 2010. <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines>

⁴⁶ Там же.

⁴⁷ Там же.

⁴⁸ Там же.

⁴⁹ Там же.

⁵⁰ Там же.

- риск образования репликационно-компетентного вируса из репликационно-дефектного вирусного вектора;
- риск реверсии к вирулентному штамму вируса, которая также может иметь место во время производства серии вакцины или в организме вакцинируемых пациентов;
- риск рекомбинации или реассортации с другими инфекционными агентами, которая может случайно произойти в организме вакцинируемых пациентов во время введения вакцины;
- специфические нежелательные явления, которые могут быть связаны с биораспределением вирусного вектора в различных тканях и органах;
- оценка степени и длительности выделения вакцинного вируса организмом и возможности передачи вакцинного вируса от вакцинированных к контактным людям;
- риск интеграции генов вирусного вектора в геном клетки-хозяина;
- риск того, что вакцинация спровоцирует развитие аутоиммунных заболеваний;
- риск возникновения нежелательных реакций у популяции пациентов, которые имеют определенную генетическую предрасположенность;
- риск повышенной восприимчивости к инфекции, вызываемой агентом, против которого направлено действие вакцины, из-за повышенного иммунного ответа к вирусному вектору.

Оценка эффективности. Оценка эффективности вакцины проводится в соответствии с руководством ВОЗ⁵¹. Если иммунные корреляты защиты не установлены, а также в случае отсутствия зарегистрированной вакцины с установленной эффективностью, клинические исследования протективной эффективности являются обязательными. Необходимость проведения исследований эффективности в условиях рутинной вакцинации следует обсудить с уполномоченными органами.

Потенциальная польза и риск применения живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин

Основными преимуществами живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин являются следующие [1]:

- вакцина потенциально может индуцировать не только гуморальный, но и клеточный иммунный ответ;
- возможность разработки вакцин против высокопатогенных инфекций, для которых классические инактивированные и живые вакцины недоступны либо их сложно производить;
- технологичность;
- более низкий риск реверсии вирулентности по сравнению с классическими живыми вакцинами (в случае репликационно-дефектных вирусных векторных вакцин).

К возможным рискам, возникающим при применении живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин, относятся следующие факторы [1]:

- наличие ограниченного объема данных об опыте их клинического применения;
- риск нежелательного биораспределения и экспрессии антигена в организме человека;
- риск рекомбинации вакцинного вектора с вирусами дикого типа;
- риск передачи вакцинного вируса от вакцинированных к контактным людям;
- потенциальная патогенность для иммунокомпрометированных лиц;
- риск реверсии вирулентности вирусного вектора.

Опыт применения аденовирусных векторных вакцин для профилактики COVID-19 в период пандемии свидетельствует об их безопасности и эффективности, что позволяет рассчитывать на достаточно хорошие перспективы дальнейшего развития вакцин данного типа, в том числе для использования в рамках рутинной иммунопрофилактики.

Заключение

На сегодняшний день имеются ограниченные данные об опыте клинического применения живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин. В мире зарегистрированы несколько живых рекомбинантных векторных вакцин против лихорадки Эбола и Денге, японского энцефалита, COVID-19. В настоящее время многие вакцины на основе вирусных векторов находятся на различных этапах исследований (доклинические исследования, клинические исследования фаз 1 и 2). В Российской Федерации вакцины Гам-КОВИД-Вак (торговое обозначение «Спутник V») и Гам-КОВИД-Вак-Лио зарегистрированы по процедуре регистрации препаратов, предназначенных для применения в условиях угрозы возникновения и ликвидации чрезвычайных ситуаций.

Разработка руководства (методических рекомендаций) по качеству, доклиническим и клиническим исследованиям живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин в Российской Федерации остается актуальной задачей. Результаты анализа подходов к оценке качества, проведению доклинических и клинических исследований живых рекомбинантных вирусных векторных вакцин могут быть полезны при разработке гармонизированных с международными нормами руководств в сфере обращения лекарственных средств.

Вклад авторов. Л. М. Хантимирова — дизайн статьи, обработка и анализ данных литературы, написание текста рукописи; Д. В. Горенков — анализ данных литературы, редактирование текста рукописи; С. Г. Гусева — анализ данных литературы, редактирование текста рукописи; В. А. Меркулов — критическое обсуждение текста рукописи, окончательное утверждение версии рукописи для публикации; А. А. Солдатов — критическое обсуждение и редактирование текста рукописи.

Authors' contributions. Leysan M. Khantimirova—elaboration of the study design, review and analysis of literature, writing of the text; Dmitry V. Gorenkov—analysis of literature, editing of the text; Svetlana G. Guseva—analysis of literature, editing of the text; Vadim A. Merkulov—revision of the paper, approval of the final version of the paper for publication; Aleksandr A. Soldatov—revision and editing of the paper.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000147-4).

Конфликт интересов. В. А. Меркулов является главным редактором журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение».

Conflict of interest. Vadim A. Merkulov is the Editor-in-chief of the *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

Литература /References

1. Sakurai A, Ogawa T, Matsumoto J, Kihira T, Fukushima S, Miyata I, et al. Regulatory aspects of quality and safety for live recombinant viral vaccines against infectious diseases in Japan. *Vaccine*. 2019;37(43):6573–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.031>

⁵¹ Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. WHO Technical Report Series No. 1004; 2017. <https://www.who.int/publications/m/item/WHO-TRS-1004-web-annex-9>

2. Monath TP, Seligman SJ, Robertson JS, Guy B, Hayes EB, Condit RC, et al. Live virus vaccines based on a yellow fever vaccine backbone: standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment. *Vaccine*. 2015;33(1):62–72. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.10.004>
3. Nakayama Y, Aruga A. Comparison of current regulatory status for gene-based vaccines in the U.S., Europe and Japan. *Vaccines*. 2015;3(1):186–202. <https://doi.org/10.3390/vaccines3010186>
4. Chokephaibulkit K, Houillon G, Feroldi E, Bouckennooghe A. Safety and immunogenicity of a live attenuated Japanese encephalitis chimeric virus vaccine (IMOJEV®) in children. *Expert Rev Vaccines*. 2016;15(2):153–66. <https://doi.org/10.1586/14760584.2016.1123097>
5. Capeding MR, Alberto ER, Bouckennooghe A, Laot TM, Chansinghakul D, Monfredo C, et al. Five-Year antibody persistence following a Japanese encephalitis chimeric virus vaccine (JE-CV) booster in JE-CV-primed children in the Philippines. *J Infect Dis*. 2018;217(4):567–71. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix601>
6. Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SR, Ismail HI, Chotpitayasunondh T, Chua MN, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomised, observermasked, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2014;384(9951):1358–65. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61060-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61060-6)
7. Thomas SJ, Yoon IK. A review of Dengvaxia: development to deployment. *Hum Vaccin Immunother*. 2019;15(10):2295–314. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1658503>
8. Guy B, Noriega F, Ochiai RL, L'azou M, Delore V, Skipetrova A, et al. A recombinant live attenuated tetravalent vaccine for the prevention of dengue. *Expert Rev Vaccines*. 2017;16(7):671–84. <https://doi.org/10.1080/14760584.2017.1335201>
9. Huttner A, Dayer JA, Yerly S, Combescure C, Auderset F, Desmeules J, et al. The effect of dose on the safety and immunogenicity of the VSV Ebola candidate vaccine: a randomized double-blind placebo-controlled phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis*. 2015;15(10):1156–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00154-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00154-1)
10. Henao-Restrepo AM, Camacho A, Longini IM, Watson CH, Edmunds WJ, Egger M, et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial (Ebola Ça Suffit!). *Lancet*. 2017;389(10068):505–18. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32621-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32621-6)
11. Coller BA, Blue J, Das R, Dube S, Finelli L, Gupta S, et al. Clinical development of a recombinant Ebola vaccine in the midst of an unprecedented epidemic. *Vaccine*. 2017;35(35, Pt A):4465–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.05.097>
12. Juan-Giner A, Tchaton M, Jemmy JP, Soumah A, Boum Y, Faga EM, et al. Safety of the rVSV ZEBOV vaccine against Ebola Zaire among front-line workers in Guinea. *Vaccine*. 2019;37(48):7171–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.09.009>
13. Regules JA, Beigel JH, Paolino KM, Voell J, Castellano AR, Hu Z, et al. A recombinant vesicular stomatitis virus Ebola vaccine. *N Engl J Med*. 2017;376(4):330–41. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414216>
14. Goldstein N, Bockstal V, Bart S, Luhn K, Robinson C, Gaddah A, et al. Safety and immunogenicity of heterologous and homologous two dose regimens of Ad26- and MVA-vectored Ebola vaccines: a randomized, controlled phase 1 study. *J Infect Dis*. 2020;jjaa586. <https://doi.org/10.1093/infdis/jjaa586>
15. Pollard AJ, Launay O, Lelievre JD, Lacabaratz C, Grande S, Goldstein N, et al. Safety and immunogenicity of a two-dose heterologous Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccine regimen in adults in Europe (EBOVAC2): a randomised, observer-blind, participant-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(4):493–506. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30476-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30476-X)
16. Milligan ID, Gibani MM, Sewell R, Clutterbuck EA, Campbell D, Plested E, et al. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia Ankara-vectored Ebola vaccines: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2016;315(15):1610–23. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.4218>
17. Mutua G, Anzala O, Luhn K, Robinson C, Bockstal V, Anumendem D, Dougouih M. Safety and immunogenicity of a 2-dose heterologous vaccine regimen with Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccines: 12-month data from a phase 1 randomized clinical trial in Nairobi, Kenya. *J Infect Dis*. 2019;220(1):57–67. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz071>
18. Anywaine Z, Whitworth H, Kaleebu P, Praygod G, Shukarev G, Manno D, et al. Safety and immunogenicity of a 2-dose heterologous vaccination regimen with Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccines: 12-month data from a phase 1 randomized clinical trial in Uganda and Tanzania. *J Infect Dis*. 2019;220(1):46–56. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz070>
19. Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatulin AI, Dzharullaeva AS, Tukhvatulina NM, Shcheblyakov DV, et al. Safety and immunogenicity of GamEvac-Combi, a heterologous VSV- and Ad5-vectored Ebola vaccine: An open phase I/II trial in healthy adults in Russia. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(3):613–20. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1238535>
20. Должикова ИВ, Токарская ЕА, Джаруллаева АШ, Тухватулин АИ, Щебляков ДВ, Воронина ОЛ и др. Векторные вакцины против болезни, вызванной вирусом Эбола. *Acta Naturae (русскоязычная версия)*. 2017;9(34):4–12. [Dolzhikova IV, Tokarskaya EA, Dzharullaeva AS, Tukhvatulin AI, Shcheblyakov DV, Voronina OL, et al. Virus-vectored Ebola vaccines. *Acta Naturae*. 2017;3(34):4–12 (In Russ.)]
21. Колесников ВВ, Жоголев СД, Кузин АА, Шипицын КС. Геморрагическая лихорадка Эбола. Особенности проведения санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. *Инфекция и иммунитет*. 2017;S:541. [Kolesnikov VV, Zhogolev SD, Kuzin AA, Shipitsyn KS. Ebola hemorrhagic fever. Features of carrying out sanitary and anti-epidemic (preventive) measures. *Infectsiya i immunitet = Infection and Immunity*. 2017;S:541 (In Russ.)]
22. Бирюков ДВ, Волобуев СВ. Современные подходы к вакцинопрофилактике болезни, вызываемой вирусом Эбола. В кн.: VII Лужские научные чтения. Современное научное знание: теория и практика. Материалы международной научной конференции. СПб; 2019. С. 133–7. [Biryukov DV, Volobuev SV. Modern approaches to vaccine prevention of the disease caused by the Ebola virus. In: VII Luga scientific readings. Modern scientific knowledge: theory and practice. Materials of the international scientific conference. St. Petersburg; 2019. P. 133–7 (In Russ.)]
23. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatullin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet*. 2020;396(10255):887–97. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3)

Об авторах / Authors

Хантимирова Лейсан Маратовна, канд. биол. наук. *Leysan M. Khantimirova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6269-0201>

Горенков Дмитрий Витальевич. *Dmitry V. Gorenkov*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0940-8080>

Гусева Светлана Геннадиевна. *Svetlana G. Guseva*. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7341-101X>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф. *Vadim A. Merkulov*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Солдатов Александр Алексеевич, д-р мед. наук. *Aleksandr A. Soldatov*, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6624-2692>

Поступила 08.12.2020

После доработки 21.10.2021

Принята к публикации 10.12.2021

Received 8 December 2020

Revised 21 October 2021

Accepted 10 December 2021