Российский иммунологический журнал
2025, Т. 28, № 3, стр. 719-725

Краткие сообщения
Short communications

Russian Journal of Immunology / Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal
2025, Vol. 28, № 3, pp. 719-725

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ *IN VIVO*

Зотова А.В.[1], Нагиева Ф.Г.[1], Баркова Е.П.[1], Краскевич Д.А.[1], Свитич О.А.[1, 2]

[1] *ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

[2] *ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия*

Резюме. Профилактика заболеваний, вызванных вирусом ветряной оспы (ВВО), с помощью вакцинации стоит в приоритете программы Всемирной организации здравоохранения по искоренению социально значимых и демографически важных инфекций, интегрируясь в программу развития Здравоохранения Российской Федерации, одним из направлений которой является включение вакцинации против ветряной оспы в Национальный календарь профилактических прививок. Математическая модель на основе эпидемиологических данных прогнозирует, что охват вакцинацией должен составлять не менее 60%, чтобы обеспечить существенное снижение заболеваемости ветряной оспой, а также при сохранении адекватного уровня охвата, вероятно, снизится заболеваемость и опоясывающим герпесом в долгосрочной перспективе. Успешное применение живых вакцин для профилактики заболеваний, связанных с ВВО, расширяет количество зарегистрированных вакцин и стран, включивших вакцинацию в национальные программы иммунизации. Разработка отечественной вакцины является необходимым условием в рамках реализации программы импортозамещения. НИИВС им. Мечникова были выделены и охарактеризованы дикие штаммы ВВО, которые могут быть использованы для создания вакцин. Стандартными методами изучения эффективности живых вакцин против вируса ветряной оспы являются определения параметров адаптивного иммунитета по таким показателям, как общий уровень антител к ветряной оспе (GMI), средние геометрические титры антител (GMT) в определенных временных промежутках, средний геометрический кратный прирост (GMFI) антител к ВВО в тот же период времени, уровень серопозитивности (определяется как процент субъектов, у которых титр антител ≥ 1:8). Однако оценка по параметрам влияния на врожденный иммунитет не изучается рутинно, только в рамках научных исследований. Для оценки врожденного иммунного ответа, как один из вариантов исследования эффективности вакцинации, можно использовать

Адрес для переписки:
Зотова Анна Вячеславовна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва,
Малый Казенный пер., 5а, стр. 2.
Тел.: 8 (999) 507-52-27.
E-mail: zotova@instmech.ru

Address for correspondence:
Anna V. Zotova
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera
5a Maly Kazenny Lane, Blgd 2
Moscow
105064 Russian Federation
Phone: +7 (999) 507-52-27.
E-mail: zotova@instmech.ru

Образец цитирования:
А.В. Зотова, Ф.Г. Нагиева, Е.П. Баркова, Д.А. Краскевич, О.А. Свитич «Экспрессия рецепторов врожденного иммунитета под действием вакцинных штаммов вируса ветряной оспы in vivo» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 3. С. 719-725. doi: 10.46235/1028-7221-17107-EOI

© Зотова А.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:
A.V. Zotova, F.G. Nagieva, E.P. Barkova, D.A. Kraskevich, O.A. Svitich "Expression of innate immunity receptors under the in vivo influence of vaccine Varicella Zoster virus strains", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 3, pp. 719-725. doi: 10.46235/1028-7221-17107-EOI

© Zotova A.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17107-EOI

экспрессию генов Toll-подобных рецепторов (*TLR*) в ответ на введение вакцин. Гены *TLR* кодируют рецепторы, распознающие структурные компоненты РНК- и ДНК-содержащих вирусов, в том числе вируса ветряной оспы. Уровни экспрессии *TLR2, TLR4, TLR9,* в свою очередь, являются маркерами активности врожденного иммунитета, которые крайне важны в ответ на введение вакцин. В ходе данной научной работы штаммы вируса ветряной оспы, полученные в лаборатории НИИВС Мечникова, были оценены на способность индуцировать врожденный иммунный ответ по маркерам *TLR2*, *TLR4* и *TLR9*. Полученные результаты позволили выделить оптимальный экспериментальный образец для дальнейшего изучения в направлении получения эффективной вакцины против инфекций, вызываемых вирусом ветряной оспы.

Ключевые слова: вирус ветряной оспы, VZV, живая вакцина, иммунный ответ, TLR2, TLR4, TLR9, Toll-подобные рецепторы, живая аттенуированная вакцина

EXPRESSION OF INNATE IMMUNITY RECEPTORS UNDER THE *IN VIVO* INFLUENCE OF VACCINE VARICELLA ZOSTER VIRUS STRAINS

Zotova A.V.[a], Nagieva F.G.[a], Barkova E.P.[a], Kraskevich D.A.[a], Svitich O.A.[a, b]

[a] *I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*
[b] *I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation*

Abstract. Vaccine prevention of disorders caused by the Varicella Zoster virus (VZV) is a priority of the World Health Organization's program for eradication of socially significant and demographically important infections, being integrated into the Russian Federal healthcare program, by including VZV vaccination in the National schedule of vaccine prophylaxis. A mathematical model based on epidemiological data predicts that the vaccination coverage should be at least 60%, in order to ensure a significantly reduced incidence of chickenpox. The incidence of Herpes Zoster is also likely to decrease at later terms, while maintaining an adequate coverage level. Successful implementation of live vaccines to prevent the VZV-associated high-risk disorders is proceeds with expanding number of vaccines registered in the countries that have included vaccination in their National immunization programs. Development of a domestic vaccine is a pre-requisite for the import-replacing programs. The Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera has isolated and characterized wild strains of VZV that may be used to develop vaccines. Standard methods for studying the effectiveness of live VZV vaccines include assessment of adaptive immunity parameterd based on such indices as total level of antibodies to varicella zoster (GMI), geometric mean antibody titers (GMT) at certain time intervals, geometric mean multiple increase (GMFI) of antibodies to VZV over the same time period, and the level of seropositivity (defined as the percentage of subjects with an antibody titer > 1:8). However, the assessment of VZV effects on innate immunity is not studied routinely, being applied only for research purposes. To evaluate the innate immune response as an index of vaccination efficiency, one may use expression of Toll-like receptor (TLR) genes in response to vaccine administration. *TLR* genes encode immune receptors that recognize the structural components of RNA and DNA-containing viruses, including VZV. In turn, the *TLR2, TLR4*, and *TLR9* expression levels are the markers of innate immunity activation, which is highly important when assessing post-vaccinal immune response. In the course of this study, the VZV strains obtained at the I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera were evaluated for their ability to induce innate immune response tested by the *TLR2, TLR4* and TLR9 markers. The results obtained have enabled us to specify an optimal experimental sample for further studies aimed at obtaining an effective vaccine against VZV-associated infectious conditions.

Keywords: Varicella Zoster virus, VZV, live vaccine, immune response, TLR2, TLR4, TLR9, Toll-like receptors, live attenuated vaccine

Введение

Антигенная нагрузка, возникающая при первичном заражении вирусом ветряной оспы (ВВО) в результате виремии и последующих поражений кожи, как правило, является достаточной для пожизненной иммунной защиты от ветряной оспы. Однако ввиду того, что ВВО является внутриклеточной персистирующей инфекцией с возможной реактивацией и развитием клинической картины с тяжелыми формами связанных заболеваний и осложнениями, вакцинация является стратегией выбора в рамках системы здравоохранения. Цель вакцинации – имитация иммунного ответа без признаков и симптомов естественной инфекции. Вакцина против ветряной оспы была впервые одобрена для использования в рамках национальной программы для детей в США в 1995 году и впоследствии была включена в программы иммунизации детей во многих странах мира [7]. По данным ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения), на 2025 год 47 стран включили в Национальные календари прививок вакцинацию против ветряной оспы, количество сран увеличивается с каждым годом. ВОЗ рекомендует включить вакцинацию против ветряной оспы в плановые программы иммунизации в странах, где ветряная оспа представляет значительную проблему для общественного здравоохранения, а охват вакцинацией должен поддерживаться на уровне выше 80% [6]. На сегодняшний день две дозы вакцины против ветряной оспы, введенные в детском возрасте, эффективны для выработки иммунитета против вируса ветряной оспы, по крайней мере в течение нескольких десятилетий [4].

Первая вакцина для профилактики ВО была приготовлена М. Такахаси из вируса ветряной оспы, выделенного из поражения эпителия кожи маленького мальчика (штамм Ока) (Takahashi, 1984). Изолят аттенуировали 11 пассажем в клетках человека при 34 °С и 12 пассажами в клетках морских свинок. Последующие вакцины были сделаны из окинского штамма после дополнительных пассажей в диплоидных клетках человека WI-38 или MRC-5, которые обычно используются для приготовления вакцин [3]. Состав доступных вакцин отличается по различным вариантам штаммов. Биоаналогичные вакцины были изготовлены из местных изолятов в Южной Корее (GC Biopharma) или из штамма Ока (Merck в США; GlaxoSmithKline в ЕС; Бикен в Японии; Sinovac в Китае) [5].

Разработка отечественных вакцин на основе собственных запатентованных штаммов вируса ветряной оспы является перспективным направлением развития в области вакцинопрофилактики [1]. Данная работа полностью отражается в стратегии развития Здравоохранения Российской Федерации, в том числе по разработкам вакцин для обеспечения Национального календаря профилактических прививок. Одним из критериев эффективности действия вакцин является стимулирование врожденного иммунитета. Для оценки эффективности разрабатываемых вакцин предлагается проведение исследований по изучению экспрессии Toll-подобных (*TLR*) рецепторов как одних из основных факторов врожденного иммунитета.

Целью данной работы явилось определение динамики экспрессии генов *TLR2*, *TLR4* и *TLR9* в мононуклеарных клетках крови при инфицировании различными вакцинными штаммами вируса ветряной оспы *in vivo*.

Материалы и методы

Штаммы вирусов

Вакцина для профилактики ветряной оспы живая аттенуированная Varilrix (РУ № ЛСР-001354/08, GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Бельгия), вакцина против ветряной оспы живая Varivax (РУ № ЛП-(000071)-(РГ-RU), MERCK SHARP & DOHME, Corp., США). Штаммы ВВО из коллекции НИИВС им. И.И. Мечникова: штамм vFiraVax (Патент Российской Федерации № 2693440 «Штамм vFiraVax для получения аттенуированной живой культуральной вакцины для профилактики ветряной оспы»), штаммы pFiraVax, vZelVax, pZelVax.

Лабораторные животные

Экспериментальные работы проводили на мышах линии BALB/c, мыши-самцы (питомник «Филиал Андреевка ФГБУН НЦБМТ ФМБА России»). Протокол исследования с использованием лабораторных животных был одобрен Локальным советом по этике при ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Работа с лабораторными животными проводилась в соответствии с правилами 3Rs, принятыми W.M.S. Russell и R.L. Burch в 1956 г.

Иммунизация мышей штаммами вируса ветряной оспы

Эксперимент *in vivo* проводили путем подкожного заражения животных исследуемыми штаммами вируса ветряной оспы. Животных разделили на 6 групп. Мышам 1-й группы водили подкожно штамм vFiraVax (НИИВС им. Мечникова) по 1 и 100 доз. Мышам 2-й группы водили подкожно штамм pFiraVax (НИИВС им. Мечникова) по 1 и 100 доз. Мышам 3-й группы водили подкожно штамм vZelVax (НИИВС им. Мечникова) по 1 и 100 доз. Мышам 4-й группы водили подкожно штамм pZelVax (НИИВС им. Мечникова) по 1 и 100 доз. Мышам 5-й группы водили подкожно вакцину сравнения Varilrix. Мышам 6-й группы,

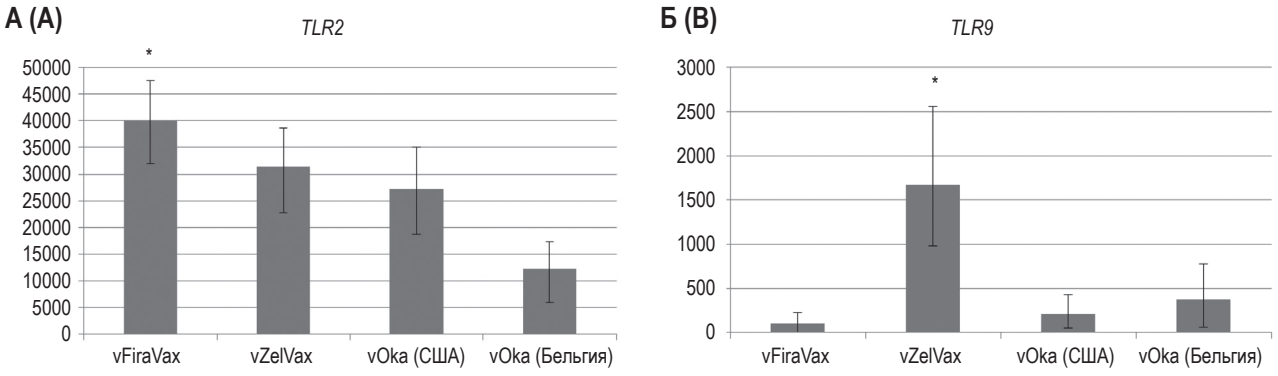

Рисунок 2. Экспрессия генов *TLR2* (А) и *TLR9* (Б) в МНК под действием различных вариантов вакцинных препаратов ВВО

Figure 2. The expression of *TLR2* (A) and *TLR9* (B) genes in MNCs under the influence of various variants of VZV vaccine

водили подкожно Varivax. Через 1 час, 1 сутки и 4 суток у мышей брали кровь для исследований. Схема эксперимента представлена на рисунке 1 (см. 3-ю стр. обложки).

Выделение РНК из мононуклеаров периферической крови

РНК выделяли из мононуклеаров периферической крови (МНК) с использованием комплектов реагентов «РИБО-сорб» (ООО «ИЛС», Россия) строго в соответствии с протоколами. Выделенную РНК хранили при температуре минус 70 °С. Реакцию обратной транскрипции (ОТ) проводили с использованием реагентов из набора «ОТ-1» (ООО «НПФ Синтол», Россия) [2].

Определение уровня экспрессии Toll-подобных рецепторов

Определение динамики уровня экспрессии генов *TLR2, TLR4, TLR9* проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием реактивов из «Набора для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I» (ООО «НПФ Синтол», Россия) и специально синтезированных праймеров (ООО «НПФ Синтол», Россия). Работа выполнена с использованием прибора ДТ-96 (ООО «НПФ ДНК-технология», Россия).

Результаты и обсуждение

Toll-подобные рецепторы являются ключевыми факторами врожденного иммунитета в отношении вирусов и бактерий, что объясняет повышенный интерес к изучению их экспрессии на протяжении инфекционного процесса, в том числе имитированного с помощью вакцинации. Исследование динамики экспрессии генов *TLRs* в клетках крови может служить инструментом для оценки иммунного ответа на введение живой вакцины.

В ходе работы проводилась оценка экспрессии генов *TLR2, TLR4, TLR9* у мышей линии BALB/c в динамике – через час, на 1-е и 4-е сутки. По результатам экспрессии делали вывод о влиянии экспериментальных штаммов вируса ветряной оспы на иммунный ответ после инфицирования.

Кандидатные штаммы vFiraVax и vZelVax индуцировали более выраженную экспрессию гена *TLR2* в МНК относительно контрольных вакцинных препаратов и практически не индуцировали экспрессию гена *TLR4* МНК относительно контрольных вакцинных препаратов. Кандидатный штамм vZelVax приводил к значительной экспрессии гена *TLR9* в МНК мышей (рис. 2).

У мышей линии BALB/c, инфицированных штаммом vFiraVax, наблюдается увеличение экспрессии гена *TLR2* и снижение экспрессии генов *TLR4* и *TLR9*. У мышей линии BALB/c, инфицированных штаммом vZelVax, наблюдается увеличение экспрессии гена *TLR2*, увеличение экспрессии гена *TLR9*, снижение экспрессии гена *TLR4*.

Заключение

Работа проводилась с целью получения оптимального по заданным характеристикам образца для дальнейшей разработки экспериментальной кандидатной вакцины для профилактики заболеваний, вызванных вирусом ветряной оспы. В ходе научной работы были оценены штаммы вируса ветряной оспы, полученные в лаборатории НИИВС Мечникова, в сравнении со штаммами зарегистрированных препаратов на способность индуцировать врожденный иммунный ответ по маркерам *TLR2, TLR4* и *TLR9*. Полученные данные свидетельствуют об эффективном стимулировании генов врожденного иммунитета, таких как *TLR2* и *TLR9*, вакцинным штаммом vZelVax, который может быть использован в дальнейшем для создания отечественной вакцины.

Список литературы / References

1. Лавров В.Ф., Свитич О.А., Казанова А.С., Кинкулькина А.Р., Зверев В.В. Varicella Zoster-вирусная инфекция: иммунитет, диагностика и моделирование *in vivo* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2019. Т. 96, № 4. С. 82-89. [Lavrov V.F., Svitich O.A., Kazanova A.S., Kinkulkina A.R., Zverev V.V. Varicella Zoster virus infection: immunity, diagnosis and *in vivo* modeling. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2019, Vol. 96, no. 4, pp. 82-89.* (In Russ.)]

2. Свитич О.А., Лавров В.Ф., Кинкулькина А.Р., Филина А.Б., Нагиева Ф.Г., Сидоров А.В., Алаторцева Г.И., Кукина П.И., Скандарян А.А., Зверев В.В. Разработка систем тестирования экспрессионных профилей генов врожденного иммунитета, позволяющих проводить оценку иммунологической эффективности вакцин против VZV-инфекции // Санитарный врач, 2017. № 12. С. 17-22. [Svitich O.A., Lavrov V.F., Kinkulkin A.R., Filina A.B., Nagieva F.G., Sidorov A.V., Alatortseva G.I., Kukina P.I., Iskandaryan A.A., Zverev V.V. Development of systems for testing the expression profiles of innate immunity genes, allowing for the assessment of the immunological efficacy of vaccines against VZV infection. *Sanitarnyy vrach = Sanitary Doctor, 2017, no. 12, pp. 17-22.* (In Russ.)]

3. Arvin A.M., Moffat J.F., Abendroth A., Oliver S.L. Varicella-zoster Virus. Genetics, Pathogenesis and Immunity. Springer, 2023. 280 p.

4. Lee Y.H., Choe Y.J., Lee J., Kim E., Lee J.Y., Hong K., Yoon Y., Kim Y.-K. Global varicella vaccination programs. *Clin. Exp. Pediatr., 2022, Vol. 65, pp. 555-562.*

5. Moon J.Y., Seo J., Lee J., Park D. Assessment of attenuation of varicella-zoster virus vaccines based on genomic comparison. *J. Med. Virol., 2023, Vol. 95, no. 3, e28590*. doi: 10.1002/jmv.28590.

6. Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper, June 2014. *Wkly Epidemiol. Rec., 2014, Vol. 89, pp. 265-288.*

7. Wang W., Pan D., Fu W., Ye X., Han J., Yang L., Jia J., Liu J., Zhu R., Zhang Y., Liu C., Ye J., Selariu A., Que Y., Zhao Q., Wu T., Li Y., Zhang J., Cheng T., Zhu H., Xia N. Development of a skin- and neuro-attenuated live vaccine for varicella. *Nat. Commun., 2022, Vol. 13, no. 1, 824.* doi: 10.1038/s41467-022-28329-1.

Авторы:

Зотова А.В. *— к.фарм.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Нагиева Ф.Г. *— д.м.н., заведующая лабораторией гибридных клеточных культур ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Баркова Е.П. *— к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории гибридных клеточных культур ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Authors:

Zotova A.V., *PhD (Pharmacy), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Nagieva F.G., *PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Hybrid Cell Cultures, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Barkova E.P., *PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Hybrid Cell Cultures, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Краскевич Д.А. *— научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Свитич О.А. *— д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия*

Kraskevich D.A., *Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Svitich O.A., *PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Professor, Russian Academy of Sciences, Director, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; Professor, A. Vorobyov Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation*

Поступила 29.03.2025
Отправлена на доработку 06.05.2025
Принята к печати 25.05.2025

Received 29.03.2025
Revision received 06.05.2025
Accepted 25.05.2025

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ *IN VIVO*» (АВТОРЫ: ЗОТОВА А.В., НАГИЕВА Ф.Г., БАРКОВА Е.П., КРАСКЕВИЧ Д.А., СВИТИЧ О.А. [с. 719-724])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE "EXPRESSION OF INNATE IMMUNITY RECEPTORS UNDER THE *IN VIVO* INFLUENCE OF VACCINE VARICELLA ZOSTER VIRUS STRAINS" (AUTHORS: ZOTOVA A.V., NAGIEVA F.G., BARKOVA E.P., KRASKEVICH D.A., SVITICH O.A. [pp. 719-724])

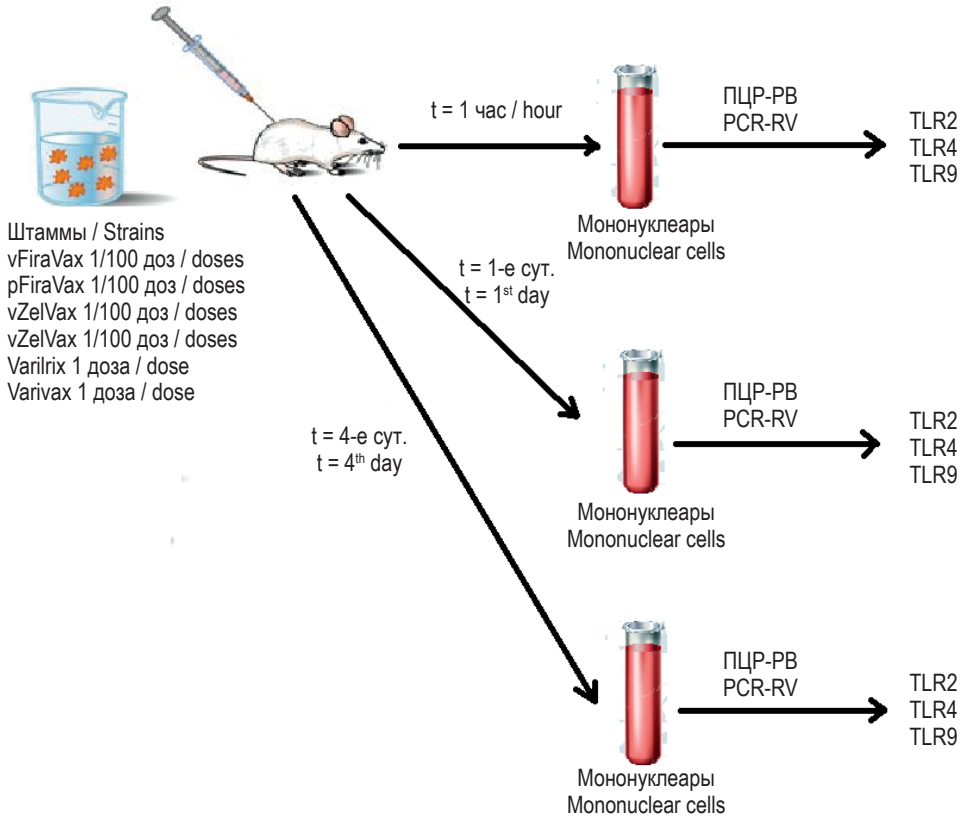

Рисунок 1. Схема эксперимента по иммунизации мышей

Примечание. vFiraVax, pFiraVax, vZelVax, pZelVax – кандидатные штаммы; Varilrix, Varivax – штаммы коммерческих вакцин; ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени; TLR2, TLR4, TLR9 – Toll-подобные рецепторы 2, 4, 9.

Figure 1. The scheme of the mouse immunization experiment

Note. vFiraVax, pFiraVax, vZelVax, pZelVax, candidate strains; Varilrix, Varivax, strains of commercial vaccines; Real-time PCR-RV polymerase chain reaction; TLR2, TLR4, TLR9, Toll-like receptors 2, 4, 9.