

УДК 616-002.5

# Бивалентная композиция рекомбинантных штаммов вируса гриппа, экспрессирующих белки различных фаз жизненного цикла *Mycobacterium tuberculosis*, для профилактики туберкулеза легких

М.А. Стукова<sup>1</sup>, Т.И. Виноградова<sup>2</sup>, Н.В. Заболотных<sup>2</sup>, А.-П.С. Шурыгина<sup>1</sup>,  
М.В. Сергеева<sup>1</sup>, М.Л. Витовская<sup>2</sup>, М.З. Догонадзе<sup>2</sup>, Ж.В. Бузицкая<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт гриппа, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии

## Bivalent composition of recombinant influenza viruses expressing proteins of various phases of *Mycobacterium tuberculosis* life cycle for prevention of lung tuberculosis

M. Stukova<sup>1</sup>, T. Vinogradova<sup>2</sup>, N. Zabolotnykh<sup>2</sup>, M. Sergeeva<sup>1</sup>,  
A.-P. Shurygina<sup>1</sup>, M. Vitovskaya<sup>2</sup>, M. Dogonadze<sup>2</sup>, Zh. Buzitskaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Influenza, St. Petersburg

<sup>2</sup> St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology

© Коллектив авторов, 2017 г.

### Резюме

Сравнительное исследование эффективности вакцинных кандидатов на основе аттенуированных рекомбинантных гриппозных штаммов, экспрессирующих микобактериальные белки TB10.4, Ag85В и HspX в различных сочетаниях, у мышей линии C57black/6 показало высокую профилактическую эффективность бивалентной вакцинной композиции Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85В. У животных, получивших двукратную интраназальную иммунизацию двумя гриппозными векторами и зараженных внутривенно *M. tuberculosis Erdman*, через 6 нед зарегистрирован отчетливый протективный эффект, значительно превышающий результативность однократной иммунизации БЦЖ. Вакцинация Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85В повысила индекс защиты легких (+0,69 Ig КОЕ) и селезенки (+0,67 Ig КОЕ), привела к значительной задержке распространенности туберкулезного воспаления и его альтернатив-

ного компонента в легких при сравнении с мышами, вакцинированными БЦЖ. По сравнению с эффектом вакцины БЦЖ иммунизация FLU/TB10.4\_HspX + FLU/Ag85В также обеспечила активацию лимфоидной составляющей клеточной воспалительной реакции (по регистрации лимфоидных гранул и крупных лимфогистиоцитарных инфильтратов) и полную задержку угнетения поглотительной и переваривающей активности перитонеальных макрофагов, характерных для распространенной туберкулезной инфекции у мышей.

**Ключевые слова:** рекомбинантный гриппозный вектор, вакцинация, БЦЖ, туберкулез

### Summary

The efficacy of immunization against tuberculosis with vaccine candidates based on attenuated recombinant influenza vectors expressing mycobacterial proteins

TB10.4, Ag85B and HspX in different combination was tested in C57black/6 mice. The greatest effectiveness of preventive immunization against tuberculosis was shown for the bivalent vaccine composition Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B. Double intranasal immunization with this composition provided significantly greater protective effect than one BCG immunization in mice 6 weeks after intravenous *M. tuberculosis* Erdman challenge. Vaccination with Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B decreased bacterial load in the lungs (+ 0.69 lg CFU) and spleen (+0.67 lg CFU) compared with the BCG vaccinated group resulting in a greater delay prevalence of tuberculous

inflammation and alteration in the lungs. In comparison with the effect of BCG the immunization with Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B also provided activation of the lymphoid component of the cellular inflammatory response according to registration of lymphoid granulomas and large lymphohistiocytic infiltrates and complete inhibition of the absorption and digestion activity of peritoneal macrophages, which is typical for tuberculosis infection in mice.

**Keywords:** recombinant influenza vector, vaccination, BCG, tuberculosis

## Введение

Несмотря на все усилия, туберкулез по-прежнему остается глобальной мировой проблемой и ведущей причиной смерти от инфекционных заболеваний [1]. По инициативе ВОЗ с 2006 г. объявлена глобальная программа борьбы с туберкулезом «The Global Plan to Stop TB», в рамках которой одно из ведущих мест занимает разработка вакцин нового поколения. В идеале вакцина должна защищать как иммунологически «наивные» группы населения, так и людей, ранее вакцинированных БЦЖ и/или инфицированных *M. tuberculosis*, а также предупреждать реактивацию микобактерий из дормантного состояния [2].

Большинство кандидатных вакцин, находящихся на стадии доклинических и клинических исследований, содержат белки микобактерий, активно экспрессирующиеся в фазе активной репликации патогена: ранние секреторные белки семейства ESAT-6 [Rv3875 (ESAT-6), Rv3874 (CFP-10) и Rv0288 (TB10.4)], два структурных секреторных белка трехкомпонентного антигенного комплекса Ag85 [Rv3804 (Ag85A), Rv1886 (Ag85B)], белки семейства сериновых протеаз MTB32. В то же время разрабатывается стратегия так называемой многоступенчатой вакцинации, при которой в состав вакцины включают латентно-ассоциированные белки *M. tuberculosis* [3]. Большой интерес в этой связи представляет белок теплового шока HspX (Rv2031c, Acr) регулона dosR, обладающий высоким уровнем экспрессии в условиях гипоксии, недостатка питательных веществ и в период перехода активно делящихся бактерий в неактивное состояние [4]. Описана способность HspX стимулировать продукцию ИФН- $\gamma$  мононуклеарными клетками периферической крови МТБ-инфицированных людей, а также индуцировать созревание дендритных клеток (DC) и продукцию провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИФН- $\beta$ ) через MyD88 и TRIF сигнальные пути TLR4. Стимулированные DC при этом за счет активации наи-

вных Т-клеток поляризуют CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетки в сторону Th1-звена [5].

**Цель исследования:** сравнительная оценка профилактической эффективности вакцинных кандидатов на основе аттенуированных рекомбинантных гриппозных штаммов, экспрессирующих микобактериальные белки TB10.4, Ag85B и HspX в различных сочетаниях, при экспериментальной туберкулезной инфекции у мышей.

## Материалы и методы исследования

В нашей работе для индукции иммунного ответа клеточного типа, определяющего протекцию при туберкулезной инфекции, использовали аттенуированные гриппозные векторы, экспрессирующие белки различных фаз жизненного цикла *M. tuberculosis* Ag85B, TB10.4 и HspX. Существенным преимуществом гриппозных векторов над препаратами с инъекционным способом введения является возможность их мукозального применения, что обеспечивает экспрессию антигенов МБТ в эпителиальных и антигенпрезентирующих клетках респираторного тракта, формируя иммунный ответ в месте внедрения микобактерии: на уровне слизистых оболочек верхних и нижних отделов дыхательного тракта [6]. Результативность применения гриппозных векторов при вакцинации туберкулеза продемонстрирована нами ранее при двукратной профилактической иммунизации мышей гриппозным штаммом, экспрессирующим ESAT-6 [7].

**Получение вакцинного штамма.** Для получения вакцинных штаммов использовали сертифицированную линию клеток Vero (Европейская коллекция клеточных культур), адаптированных к росту в бессывороточной культуральной среде. Вакцинные штаммы, стабильно экспрессирующие микобактериальные белки TB10.4, Ag85B, химерный белок TB10.4\_HspX, получены методом обратной генетики путем транс-

фекции клеток Vero набором из 8 плазмид, синтезированных в компании Gene Art life technologies, Австрия. Последовательности 8 генетических сегментов вируса гриппа A/PR/8/34 получены из Международной базы данных GenBank; последовательности генетических сегментов, кодирующих микобактериальные белки, — из базы данных Tuberculist (tuberculist.epfl.ch). В плазмиде, содержащей ген NS, последний был направлен укорочен до последовательности, кодирующей 124 аминокислотных остатка, и продолжен вставкой нуклеотидной последовательности, кодирующей белки TB10.4, либо Ag85B, либо TB10.4\_HspX. Трансфекцию проводили путем электропарации в соответствии с инструкцией по использованию Nucleofector technique фирмы Amaha. Трансфицированные клетки сеяли в 6-луночные планшеты с заменой (через 6 ч) на среду Opti-Pro SFM (Gibco) с 2 mM L-глутамина и трипсина (1 мкг/мл). Через 2 дня супернатант использовали для последующих пассажей в клетках Vero.

**Иммунизация и инфицирование мышей.** Исследование проведено на 105 мышях линии C57black/6 (питомник «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий РАМН). Мышей (16–18 г) иммунизировали рекомбинантным гриппозным вектором Flu/TB10.4 либо двумя бивалентными вакцинными композициями: Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B и Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B двукратно интраназально под легким эфирным наркозом в дозе 30 мкл/мышь с интервалом в 3 нед. Через 3 нед после второй иммунизации у животных моделировали туберкулез введением в латеральную хвостовую вену взвеси трехнедельной культуры *M. tuberculosis Erdman* ( $10^6$  КОЕ/мышь), а через 6 нед после инокуляции инфекта оценивали протективный эффект вакцинации. Контролем служили зараженные невакцинированные животные (контроль заражения), а также мыши, вакцинированные БЦЖ. Исследования выполнены в соответствии с рекомендациями директивы Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей.

**Исследование протективного эффекта.** Эффект протективного действия вакцинации оценивали через 6 нед после инфицирования по высеваемости *M. tuberculosis Erdman* из легких и селезенки, а также по гистологическому исследованию срезов легких. При бактериологическом исследовании осуществляли дозированный посев гомогенатов легких и селезенки на плотную яичную среду Левенштейна–Йенсена методом серийных разведений. Нижняя граница чувствительности метода —  $2 \times 10^3$  КОЕ. Массивность роста МБТ выражали в Ig от числа колониеобразующих единиц (КОЕ) на массу легких. Индекс защиты органа

рассчитывали вычитанием Ig КОЕ иммунизированных мышей из Ig КОЕ мышей контрольных групп. Положительным эффектом по задержке роста МБТ считался индекс защиты  $\geq 0,5$  Ig. Для гистологического изучения легкие фиксировали в 10% формалине, заливали в целлоидин-парафин-масло, срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

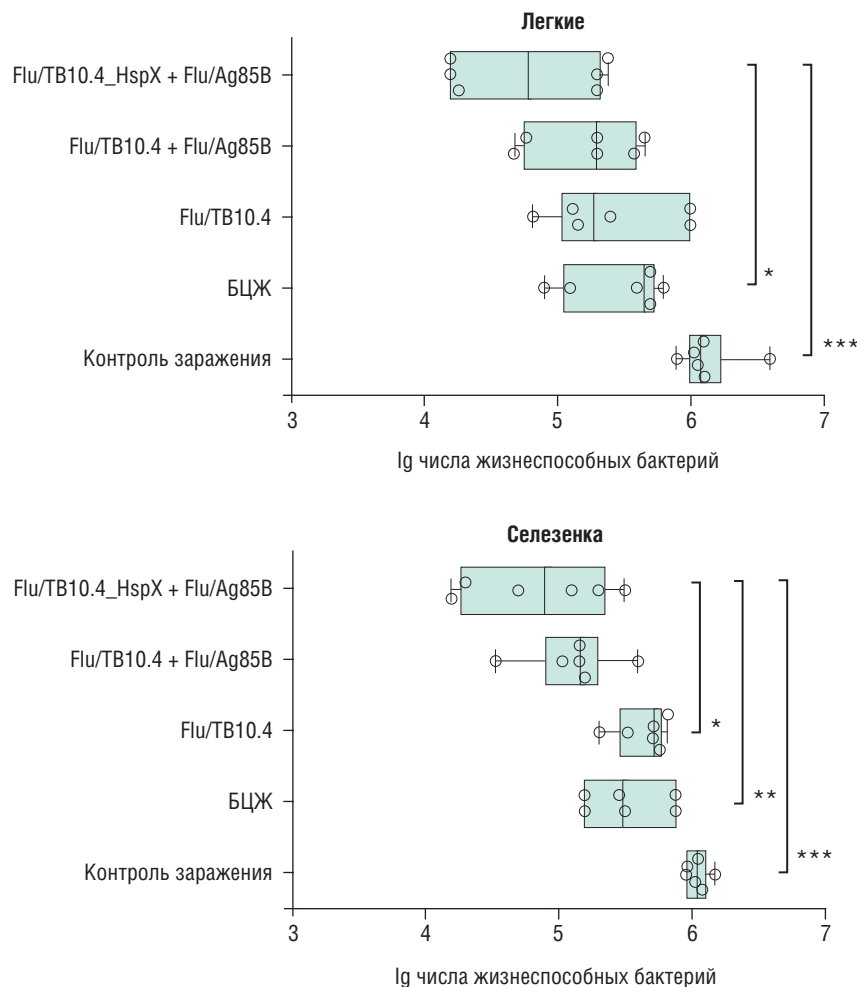
**Оценка иммунного статуса.** Фагоцитоз исследовали в культуре перитонеальных макрофагов (пМФ,  $1 \times 10^6$  клеток), полученных из лаважа брюшной полости мышей, в отношении клеточной взвеси дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae* ( $1 \times 10^7$  клеток), опсонизированных сывороткой мышей. Вычисляли: фагоцитарную активность пМФ — процент пМФ, вовлеченных в фагоцитоз; фагоцитарное число — среднее количество дрожжей, поглощенных одной фагоцитирующей клеткой; показатель завершенности фагоцитоза — количество дрожжей, переваренных пМФ за 1,5 ч культивирования; индекс завершенности фагоцитоза — отношение фагоцитарного числа за 1 час культивирования к фагоцитарному числу за 2,5 ч культивирования.

**Статистическая обработка данных** проводилась с использованием стандартного пакета программ Statistica 7 по параметрическому критерию Стьюдента и  $\chi^2$  (при обработке данных гистологического обследования и показателей фагоцитоза), а также программного обеспечения GraphPad 6.0 и R-studio для проведения однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорными множественными сравнениями (Tukeypost-hoc тест) при обработке данных высеваемости.

## Результаты исследования

При анализе результатов экспериментов выявлено, что эффект существенной задержки развития туберкулезной инфекции наблюдался при использовании бивалентных вакцинных композиций Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B и Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B в схеме профилактической двукратной интраназальной иммунизации через 6 нед после внутривенной инокуляции *M. tuberculosis Erdman*. Их действие зафиксировано по выраженному снижению бактериовыделения МБТ из легких и селезенки — интегрального показателя протекции (рис. 1).

При этом по сравнению с невакцинированными животными высеваемость МБТ значительно уменьшилась как при иммунизации Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B (индекс защиты легких +0,84 Ig, селезенки — +0,95 Ig числа жизнеспособных микобактерий), так и при использовании Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B (индекс защиты легких — +1,28 Ig, селезенки — +1,2 Ig КОЕ). У третьего вакцинного кандидата Flu/TB10.4 снижение



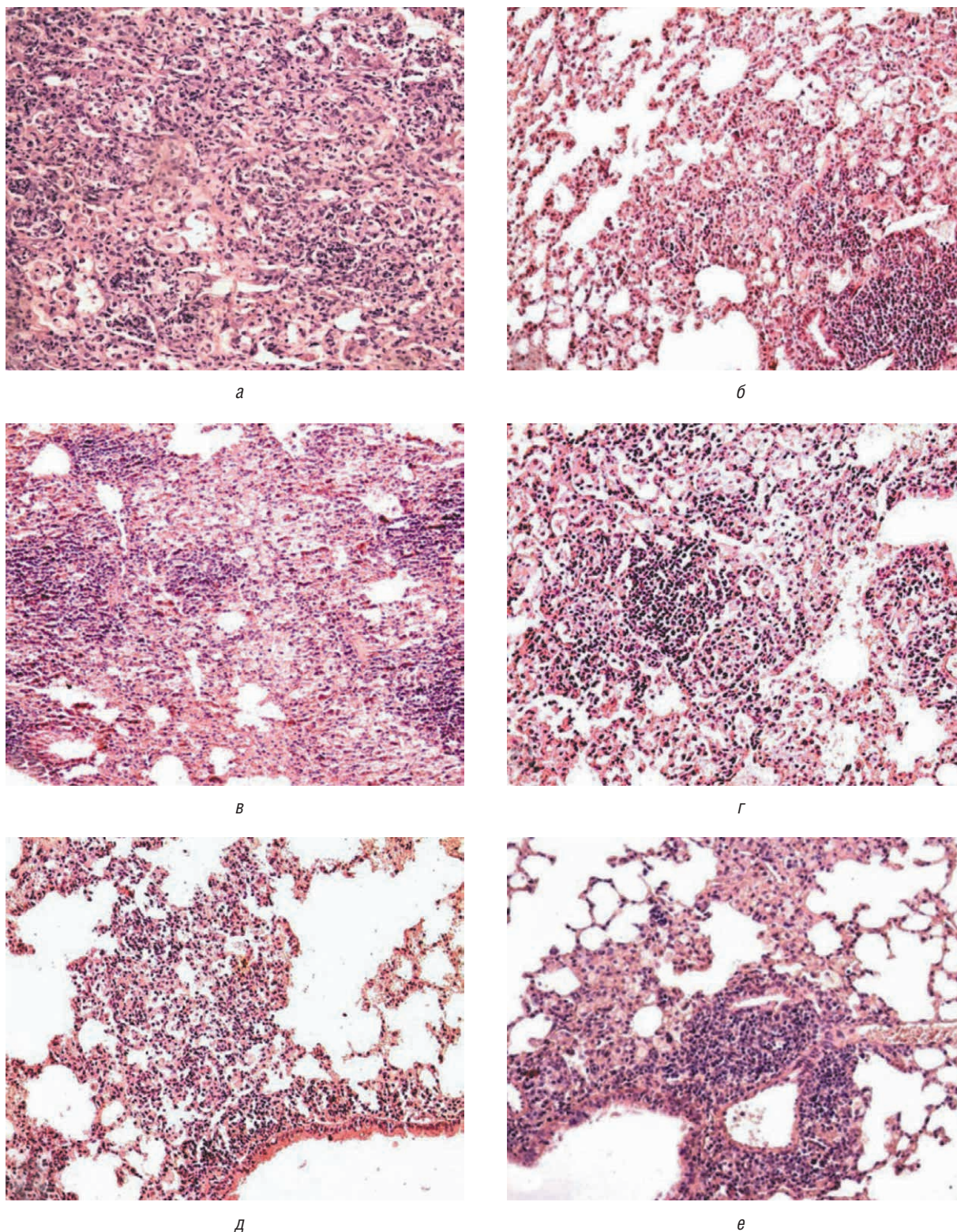
**Рис. 1.** Высеваемость *M. tuberculosis Erdman* из легких и селезенки мышей C57black/6 через 6 нед после инфицирования. Данные представлены в виде диаграмм размаха с обозначением индивидуальных значений (o); горизонтальная линия — медиана; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,005$ ; \*\*\*  $p < 0,0005$  однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорными множественными сравнениями (Tukeypost-hoc-тест)

высеваемости МБТ из легких и селезенки также было статистически значимым ( $p < 0,01$ ), однако индексы защиты органов были  $< 0,5$  lg КОЕ и составили в легких  $+0,39$  lg, в селезенке  $+0,41$  lg КОЕ, что не позволяет сделать вывод о положительном протективном эффекте самостоятельного применения компонента Flu/TB10.4.

Сравнение индексов защиты легких и селезенки при иммунизации Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B и Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B со стандартной вакциной БЦЖ показало, что наибольший протективный эффект проявляет композиция Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B. У мышей, иммунизированных Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B, обсемененность паренхиматозных органов МБТ была достоверно самой низкой, а индексы защиты легких и селезенки — наибольшими и превышали индексы мышей, вакцинированных БЦЖ, на  $0,69$  lg КОЕ ( $p < 0,039$ ) и  $0,67$  lg КОЕ ( $p < 0,024$ ) соответственно.

Самая высокая результативность Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B подтверждена и данными гистологического исследования легких (рис. 2).

В то время как при вакцинации Flu/TB10.4 (рис. 2, в) существенных различий в характеристиках специфического воспаления с показателями мышей, вакцинированных БЦЖ (рис. 2, б), не обнаружено, обе бивалентные композиции обеспечили достоверную задержку распространности и альтернативного компонента туберкулезного воспаления (рис. 2, г, д). Так, при иммунизации мышей Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B и Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B ни в одном случае не обнаружено ни сливных очагов специфического воспаления, снижающих воздушность легких более чем на 30% площади среза ( $p < 0,004$  при сравнении с невакцинированными), ни маркеров альтерации — нейтрофильных лейкоцитов ( $p < 0,0002$ ), в то время как при вакцинации БЦЖ сливные инфильтраты выявлены



**Рис. 2.** Репрезентативные микрофотографии легких мышей C57black/6 через 6 нед после заражения *M. tuberculosis Erdman*. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 300$ : *a* — сливные очаги специфической инфильтрации с выраженной серозной и фибринозной экссудацией в легких невакцинированной мыши; *б* — очаг специфической инфильтрации в легких мыши, вакцинированной БЦЖ. Крупный периваскулярный инфильтрат; *в* — очаги специфической инфильтрации при вакцинации Flu/TB10.4; *г* — очаг специфической инфильтрации в легких мыши, вакцинированной Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B; *д* — небольшие очаги инфильтрации при вакцинации Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B; *е* — крупные периваскулярные и перибронхиальные лимфогистиоцитарные инфильтраты при вакцинации Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B

в 2 из 6 случаев, а нейтрофильные лейкоциты — в 3 из 6 случаев.

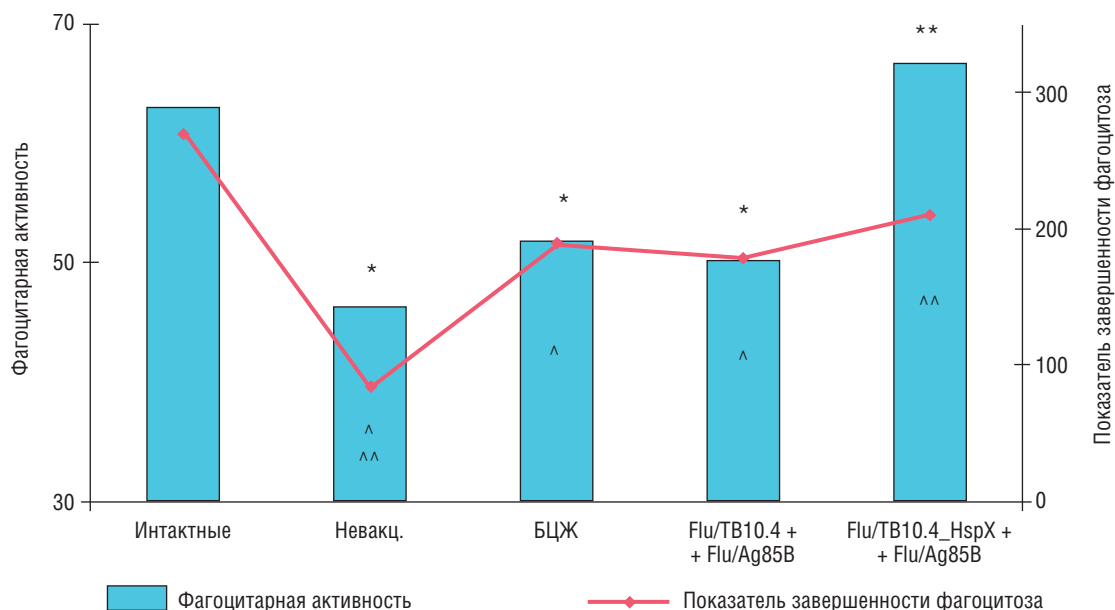
Иммунизация композициями Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B и Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B привела также к перестройке клеточного состава гранул. В отличие от мышей, вакцинированных БЦЖ, у которых в 2 из 6 случаев гранулы содержали крупные скопления эпителиоидных клеток (преимущественно эпителиоидные гранулемы), при использовании обеих композиций векторов преимущественно эпителиоидных гранул в ткани легких мышей не обнаружено. В то же время иммунизация гриппозными векторами привела к повышению частоты регистрации лимфоидных гранул. Если при вакцинации БЦЖ лимфоидные гранулы отмечались только в 2 из 6 случаев, то при вакцинации Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B — в 4 из 6 случаев, а у мышей, иммунизированных Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B, все зарегистрированные гранулы были лимфоидными ( $p < 0,02$  при сравнении с контролем вакцины). Чаше всего при вакцинации Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B выявлялись и крупные перибронхиальные лимфогистиоцитарные инфильтраты (в 4 из 6 случаев против 2 из 6 случаев у мышей, вакцинированных БЦЖ) (рис. 2, e).

Определение активности фагоцитоза перитонеальными макрофагами (пМф) клеточной взвеси дрожжей подтвердило преимущества композиции Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B (рис. 3).

При этом достоверное угнетение поглотительной и переваривающей способности пМф, характерное для распространенной экспериментальной туберкулезной инфекции, отмечено во всех группах мышей кроме той, что была иммунизирована Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B. Вакцинация БЦЖ и Flu/TB10.4 + Flu/Ag85B несколько снизила степень угнетения фагоцитоза, однако значимая ингибция по отношению к интактной группе животных сохранилась по тем же показателям, что и у невакцинированных мышей. В то же время у мышей, иммунизированных Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B, поглотительная и переваривающая способность пМф была на уровне интактных мышей, достоверно превышая показатели в группе вакцинированных БЦЖ ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,002$ ), что свидетельствует о большей, чем у БЦЖ, степени задержки угнетения фагоцитоза и согласуется с наименьшей распространенностью инфекции у данных животных.

### Обсуждение результатов

В нашей работе в схеме двукратной профилактической вакцинации проведено сравнение вакцинных кандидатов, экспрессирующих один (TB10.4) или несколько микобактериальных белков (TB10.4, Ag85B, HspX). При этом наибольший протективный эффект, достоверно превышающий действие стандартной вакцины БЦЖ, обнаружен при использовании бива-



**Рис. 3.** Показатели фагоцитоза у мышей C57black/6 через 6 нед после инфицирования *M. tuberculosis Erdman*.

\*Достоверность различий фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов по сравнению с группой интактных мышей;

\*\*достоверность различий фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов по сравнению с группой мышей, вакцинированных БЦЖ; ^ достоверность различий показателя завершенности фагоцитоза по сравнению с группой интактных мышей;

^^ достоверность различий показателя завершенности фагоцитоза по сравнению с группой мышей, вакцинированных БЦЖ

лентной композиции гриппозных векторов, экспрессирующих все три микобактериальных антигена Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B. Защитное действие кандидата зафиксировано по выраженному увеличению по отношению к мышам, вакцинированным БЦЖ, индекса защиты легких и селезенки (+0,69 Ig и +0,67 Ig числа жизнеспособных бактерий), по задержке распространности туберкулезного воспаления в легких и его альтернативного компонента.

Эти результаты согласуются с литературными данными об эффективности вакцинных кандидатов, содержащих несколько микобактериальных антигенов, способных вызвать индукцию сбалансированного антиген-специфического иммунного ответа [3, 8]. При этом авторами подчеркивается значение включения в состав вакцин белков, характерных для различных фаз жизненного цикла микобактерий, что придает вакцине «многоступенчатый» характер и приводит к более широкой протективной активности [9]. В этой связи представляется особенно интересным установленное в нашей работе повышение эффективности профилактической иммунизации при включении в композицию латентно ассоциированного белка теплового шока HspX.

Наиболее отчетливо выраженные при использовании Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B лимфоидная перестройка клеточного состава гранулем и увеличение площади лимфогистиоцитарных перибронхиальных инфильтратов свидетельствуют об активации вакцинным кандидатом лимфоидной составляющей клеточной воспалительной реакции в легких. Этот эффект, скорее всего, обусловлен мукозальным способом доставки микобактериальных белков, направленным на формирование иммунного ответа на уровне дыхательных путей, что имеет большое значение при туберкулезе вследствие аэрогенного пути заражения при данной инфекции [6]. Параллелизм зарегистрированной достоверной активации лимфоидной ткани в легких и усиления протективного эффекта противотуберкулезной вакцинации позволяет отнести формирование лимфоидных туберкулезных гранулем к важнейшим составляющим поствакцинального противотуберкулезного иммунитета. Связь формирования эктопической лимфоидной ткани, сопровождающейся накоплением в легких CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, экспрессирующих активационные и пролиферационные маркеры, с защит-

ным действием вакцины отмечена и в литературных источниках [9].

Еще одним иммуностимулирующим эффектом вакцинации бивалентной композицией Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B является действие вектора на активность фагоцитарных реакций макрофагов — клеток адаптивного иммунитета, являющихся основными элиминаторами микобактерий. Иммунизация вакцинной композицией предотвратила достоверное угнетение поглотительной и переваривающей способности пМф, характерное для распространенной экспериментальной туберкулезной инфекции [10].

Таким образом, сравнение при профилактической иммунизации экспериментального туберкулеза вакцинных кандидатов, экспрессирующих микобактериальные белки TB10.4, Ag85B и HspX в различных сочетаниях, самую высокую результативность, достоверно превысившую действие стандартной вакцины БЦЖ, выявило у бивалентной композиции гриппозных векторов Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B. Эти данные указывают на перспективность включения белка HspX, обеспечивающего вакцине «многоступенчатый» характер, в состав вакцинных кандидатов.

## Выводы

1. Двукратная интраназальная иммунизация бивалентной композицией гриппозных векторов Flu/TB10.4\_HspX+Flu/Ag85B через 6 нед после внутривенной инокуляции мышам *M. tuberculosis Erdman* обеспечила отчетливый протективный эффект, значимо превышающий результативность БЦЖ. Вакцинация Flu/TB10.4\_HspX + Flu/Ag85B повысила индекс защиты легких (+0,69 Ig КОЕ) и селезенки (+0,67 Ig КОЕ) по сравнению с БЦЖ и уменьшила распространенность туберкулезного воспаления в легких и его альтернативного компонента.
2. По сравнению с эффектом вакцины БЦЖ иммунизация FLU/TB10.4\_HspX + FLU/Ag85B также обеспечила большую активацию лимфоидной составляющей клеточной воспалительной реакции (по регистрации лимфоидных гранулем и крупных лимфогистиоцитарных инфильтратов) и достоверную задержку угнетения поглотительной и переваривающей активности перитонеальных макрофагов, характерных для распространенной туберкулезной инфекции у мышей.

Работа выполнена в рамках Государственной работы «Экспериментальные разработки» Государственного задания Минздрава России на 2015–2017 гг.

## Список литературы

1. Лучкевич В.С., Хасанова Е.А. Тенденции эпидемической ситуации по туберкулезу в России на современном этапе (обзор) // Медицинский альянс. 2016. № 3. С. 20–23. *Luchkevich V.S., Khasanova E.A. Tendentsii epidemiologicheskoi situatsii po tuberkulezu v Rossii na sovremen-nom etape (obzor) // Meditsinskii al'yans. 2016. N 3. P. 20–23.*
2. Andersen P., Kaufmann S.H.E. Novel Vaccination Strategies against Tuberculosis // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2014. Vol. 4, N 6. P. a018523.
3. Singh S., Saraav I., Sharma S. Immunogenic potential of latency associated antigens against Mycobacterium tuberculosis // Vaccine. 2014. Vol. 32, N 6. P. 712–716. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.11.065.
4. Mushtaq K., Sheikh J.A., Amir M. et al. Rv2031c of Mycobacterium tuberculosis: a master regulator of Rv2028-Rv2031 (HspX) operon // Front Microbiol. 2015. Vol. 27. P. 6–351.
5. Jung I.D., Shin S.J., Lee M.G. et al. Enhancement of tumor-specific T cell-mediated immunity in dendritic cell-based vaccines by Mycobacterium tuberculosis heat shock protein X // J. Immunol. 2014. Vol. 193, N 3. P. 1233–1245. doi: 10.4049/jimmunol.1400656.
6. Lai R., Afkhami S., Haddadi S. et al. Mucosal immunity and novel tuberculosis vaccine strategies: route of immunisation-determined T-cell homing to restricted lung mucosal compartments // Eur. Respir. Rev. 2015. Vol. 24, N 136. P. 356–360.
7. Stukova M.A., Sereinig S., Zabolotnyh N.V. et al. Vaccine potential of influenza vectors expressing Mycobacterium tuberculosis ESAT-6 protein // Tuberculosis (Edin.). 2006. Vol. 86, N 3–4. P. 236–246. doi: 10.1016/j.tube.2006.01.010.
8. Ma J., Tian M., Fan X. et al. Mycobacterium tuberculosis multi-stage antigens confer comprehensive protection against pre- and post-exposure infections by driving Th1-type T cell immunity // Oncotarget. 2016. Vol. 7, N 39. P. 63804–63815. doi: 10.18632/oncotarget.11542.
9. Kaushal D., Foreman T.W., Gautam U.S. et al. Mucosal vaccination with attenuated Mycobacterium tuberculosis induces strong central memory responses and protects against tuberculosis // Nat. Commun. 2015. Vol. 6. P. 8533. doi: 10.1038/ncomms9533.
10. Khan T.A., Mazhar H., Saleha S. et al. Interferon-Gamma Improves Macrophages Function against M. tuberculosis in Multidrug-Resistant Tuberculosis Patients // Chemother. Res. Pract. 2016. Vol. 2016. P. 7295390. doi: 10.1155/2016/7295390.

Поступила в редакцию 01.11.2017 г.

## Сведения об авторах:

Стукова Марина Анатольевна — кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией векторных вакцин Научно-исследовательского института гриппа; 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 15/17; e-mail: marina.stukova@influenza.spb.ru;

Виноградова Татьяна Ивановна — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: vinogradova@spbniif.ru;

Заболотных Наталья Вячеславовна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: zabol-natal@yandex.ru;

Шурыгина Анна-Полина Сергеевна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Научно-исследовательского института гриппа; 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 15/17; e-mail: ann-polin@yandex.ru;

Сергеева Мария Валерьевна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского института гриппа; 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 15/17; e-mail: marivsergeeva@gmail.com;

Витовская Мария Львовна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: mariavit72@mail.ru;

Догонадзе Марине Зауриевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: marine-md@mail.ru;

Бузицкая Жанна Валерьевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Научно-исследовательского института гриппа; 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 15/17; e-mail: janna.buzitskaya@influenza.spb.ru.