

**Р.В. Петров
Р.М. Хаитов**



ИММУНОЛОГИЯ

Иммуногены и вакцины нового поколения

Москва



**ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»**

2011

УДК 616-097
ББК 52.6+53.53
П 30

Петров Рэм Викторович

Академик РАН, РАМН и РАСХН, профессор, Герой Социалистического Труда, лауреат Государственной премии и премии Правительства РФ, Почетный председатель Всероссийского научного общества иммунологов.

Хайтов Рахим Мусаевич

Академик РАН и РАМН, профессор, директор ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, лауреат Государственной премии и дважды лауреат премии Правительства РФ, президент Российской ассоциации аллергологов и иммунологов.

Научный редактор — д-р биол. наук, проф. **Манько Виктор Михайлович** (ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России).

Иллюстративный материал — **Закурдаева Алла Юрьевна** (ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России).

П 30 Петров Р.В., Хайтов Р.М.

Иммуногены и вакцины нового поколения. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 608 с. : ил. (Серия «Библиотека врача-специалиста»)

ISBN 978-5-9704-1868-0

Книга посвящена созданию эффективных иммуногенов и конструированию на их основе вакцин нового поколения с повышенными иммунизующими свойствами против ряда актуальных инфекций (грипп, гепатиты, ВИЧ/СПИД, рак, туберкулез, сальмонеллез и др.), а также аллергий. Характеризуются очищенные фрагменты и эпитопы выделенных антигенов различных вирусов, бактерий и простейших, минимальная структура которых в сочетании с современными адъювантами обеспечивает развитие высокого иммунного ответа. Рассматриваются достижения в области создания ДНК- и других генетических вакцин, обратных вакцин, растительных рекомбинантных вакцин, терапевтических вакцин и вакцин против соматических (неинфекционных) болезней. Особое внимание уделяется конструированию нановакцин и созданию наноантител. Характеризуются внедренные в медицинскую практику полиммерсубъединичные вакцины против гриппа, проходящие клинические испытания вакцина против ВИЧ/СПИДа и аллерготропины для специфической иммунотерапии аллергий. Анализируются результаты исследований по включению адъювантов с контролируемой структурой в состав создаваемых вакцин с целью повышения эффективности.

Книга предназначена для научных сотрудников, врачей, студентов, аспирантов, ординаторов и преподавателей в области иммунологии и смежных дисциплин — молекулярной биологии, микробиологии, биохимии, биофизики и др.

УДК 616-097
ББК 52.6+53.53

Права на данное издание принадлежат ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». Воспроизведение и распространение в каком бы то ни было виде части или целого издания не могут быть осуществлены без письменного разрешения ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа».

ISBN 978-5-9704-1868-0

© Петров Р.В., Хайтов Р.М., 2010
© ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2010
© ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», оформление, 2010

Глава 1

ЕСТЕСТВЕННЫЕ ЗАЩИТНЫЕ СИЛЫ ОРГАНИЗМА: «ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ»

Органом иммунной системы является лимфоидная ткань, в которой главные клеточные популяции, участвующие в поддержании генетического постоянства внутренней среды организма, — фагоцитирующие, антигенпредставляющие клетки и иммунокомпетентные лимфоциты.

Иммунная защита, осуществляемая клетками системы иммунитета, включает два взаимосвязанных компонента. Более древний из них связан с воспалительной реакцией и реализуется на базе функционирования сенсорных и рецепторных структур, эволюционно отсеleccionированных для того, чтобы отличить вообще «чужое», в виде высококонсервативных молекул различных патогенов, отсутствующих у млекопитающих, от «своего» [453]. Эти реакции выполняются преимущественно макрофагами и дендритными клетками, осуществляющими главным образом антигенпредставляющие функции, и служат фундаментом, на котором разворачиваются более тонкие антигенспецифические процессы, осуществляемые лимфоидными клетками, способными обнаружить малейшие отличия в молекулярном строении различных антигенных структур, включая патогенные, от «своего». В соответствии с развивающимися процессами и функциями, выполняемыми этими защитными компонентами, первый из них обозначают как врожденный или естественный иммунитет (Innate immunity), второй — как адаптивный иммунитет (Adaptive immunity) или как иммунный ответ (Immune response).

В физиологических реакциях организма, направленных на поддержание генетического постоянства внутренней среды организма, важнейшую роль играют факторы естественной резистентности, действие которых направлено на защиту организма от вне- и внутриклеточных микроорганизмов и продуктов повреждения собственных клеток. Эти факторы включаются в защиту мгновенно после преодоления возбудителем кожных или слизистых оболочек и внедрения его во внутреннюю среду организма. Их влияние продолжается в течение

всего периода борьбы организма с инфекцией, но наиболее эффективно действие таких факторов развивается в течение первых 4 часов после внедрения микроба, когда они являются практически единственными защитниками организма.

На пути проникшего в организм микроба стоят две мощные преграды: клеточные (тканевые макрофаги, нейтрофилы, естественные киллерные клетки — ЕКК) и гуморальные (IgG-антитела, комплемент) факторы естественной резистентности. К факторам естественной резистентности относят также микробицидные экзосекреты (бактерицидные компоненты слюны, соляная кислота желудка, литические пищеварительные ферменты кишечника и др.), белки острой фазы и другие организменные структуры и субстанции.

1.1. ГУМОРАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ

Среди гуморальных факторов, участвующих в противомикробной защите, важная роль принадлежит системе комплемента, впрочем, так же как и в реализации отдельных эффекторных механизмов позднего иммунного ответа. Эта система включает около 30 взаимодействующих белков плазмы крови и рецепторов клеточной поверхности. В таблице 1 показаны основные компоненты системы комплемента, в таблице 2 — клеточные рецепторы для этих компонентов.

Функции системы комплемента многообразны. Ряд компонентов системы комплемента характеризуется ферментативными функциями (протеазы), другие выполняют иные функции: связываются с микробами и клеточными мембранами, с комплексами антиген—антитело, активируют тучные клетки, обеспечивают развитие сосудистых реакций воспаления, перфорацию мембран бактериальных клеток, опсонизируя микробы (связывание компонента системы с микробом и рецептором для компонента на клетке), активируют функции фагоцитов. В норме, при отсутствии распада собственных тканей и микробного заражения, система комплемента находится в покое. Однако при запросе, вызванном определенными раздражителями, система комплемента активируется тремя возможными путями — классическим, альтернативным и лектиновым, что, по сути, представляет собой первую линию активной защиты против инфекции.

Таблица 1

Основные компоненты системы комплемента

Функции	Обозначения
Связывание с комплексом антиген—антитело	C1q
Связывание с мембраной бактерий и опсонизация к фагоцитозу	C4b C3b
Протеазы, активирующие другие компоненты системы путем расщепления	C1r C1s C2b Bb D
Медиаторы воспаления (дегрануляция тучных клеток, сосудистые реакции)	C5a C3a C4a
Комплекс белков атаки на мембрану (перфорация мембраны клеток-мишеней)	C5b C6 C7 C8 C9
Комплементрегулирующие белки (ингибиторы активации, блокаторы активности)	C1inh C4bp CR1 MCP DAF Фактор Н Фактор I Фактор Р CD59

Примечание: C1inh (от C1-inhibitor) — ингибитор компонента C1; MCP (от Membrane cofactor proteolysis) — мембранный кофактор протеолиза, белок, связывающий компонент C3b, что обеспечивает доступность компонента C3b для деградации протеазой — фактором I; DAF (от Decay accelerating factor) — фактор, усиливающий расщепление, белок мембраны клеток млекопитающих, ускоряющий деградацию (инактивацию) компонента C2b; Н — фактор Н — сывороточная протеаза, деградирующая компонент C3b; фактор I — протеаза, деградирующая компоненты C3b и C4b; фактор Р (пропердин) — стабилизатор активного комплекса C3b/Bb; CD59 — белок мембраны клеток млекопитающих, препятствующий лизису собственных клеток, вызванному комплементом.

Таблица 2

Клеточные рецепторы для компонентов системы комплемента

Рецептор	Связываемый компонент комплемента	Экспрессия рецептора на клетках	Эффект связывания
CR1 (CD35)	C3b, C4b, IC3b	Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, фолликулярные дендритные клетки, В-лимфоциты, эритроциты	Способствует разрушению компонентов C3b и C4b. Опсонизированный фагоцитоз. Активация В-лимфоцитов. Транспорт иммунных комплексов на эритроцитах
CR2 (CD21)	C3d, C3dg, C3bi, EBV	Фолликулярные дендритные клетки. Зрелые В-лимфоциты	Компонент корцепторного комплекса для антигена на В-лимфоцитах. Рецептор для вируса Эпштейна-Барр
CR3 (CD11b/CD18)	C3bi	Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, гранулоциты, фолликулярные дендритные клетки, ЕКК	Опсонизированный фагоцитоз. Нефагоцитируемое связывание комплексов антиген-антитело на фолликулярных дендритных клетках
CR4 (CD11c/CD18)	C3bi	Тканевые макрофаги, дендритные клетки	Опсонизированный фагоцитоз
C1qR	C1q (коллагеноподобная часть)	Макрофаги, моноциты, В-лимфоциты, тромбоциты, эндотелий	Связывание иммунных комплексов
Рецептор для C5a	C5a	Макрофаги, тучные клетки	Активация макрофагов. Дегрануляция и активация тучных клеток

Примечание: CR — Complement receptor type 1, 2 и т.д.; EBV — вирус Эпштейна-Барр.

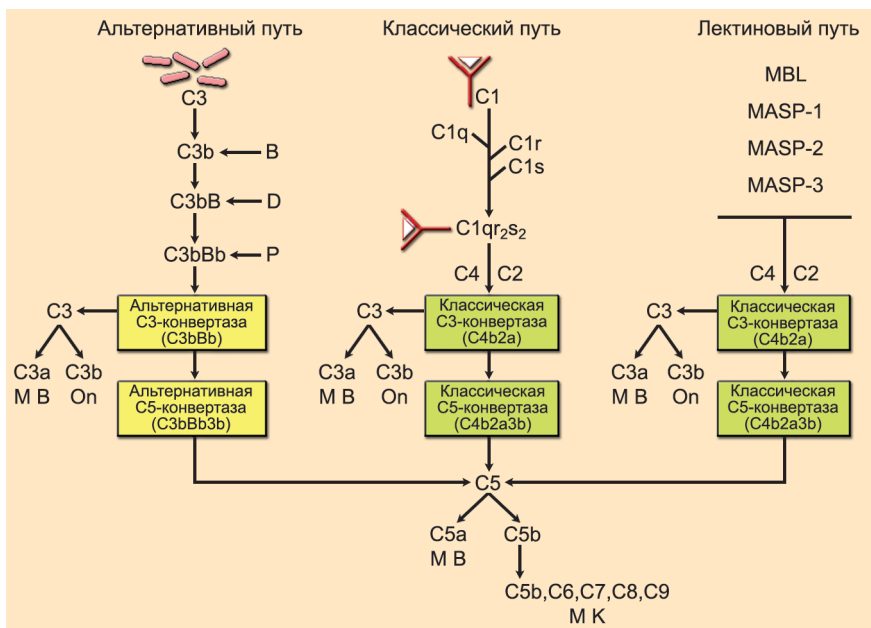


Рис. 1. Схема активации белков системы комплемента по классическому, альтернативному и лектиновому путям:

C1–C9 — компоненты системы комплемента; B — сывороточный фактор В; MB — медиатор воспаления (анафилатоксин); On — опсонин; МК — мембраноатакующий комплекс; MBL (Mannan-binding lectin) — маннансвязывающий лектин; MASP-1, -2, -3 (MBL-associated serine protease-1, -2, -3) — ассоциированная с MBL сериновая протеаза-1, -2, -3. Пояснения в тексте

Альтернативный путь активации системы комплемента (рис. 1) инициируется спонтанным расщеплением компонента C3 или в результате его взаимодействия со специфическими сахарами на поверхности патогена. Этот способ самоактивации молекулы C3 образно называют «заведенным мотором». Расщепление C3 сопровождается образованием компонентов C3a и C3b. Молекула C3b выполняет функции опсонина и, будучи ковалентно связанной с микробом, нековалентно связывает сывороточный фактор В, который становится субстратом для сериновой протеазы — белка D системы комплемента. Фактор D расщепляет фактор В на фрагменты Ba и Bb. Фактор Bb остается связанным с компонентом C3b на поверхности микроба и образует активный ком-

плекс C3bBb, в котором фрагмент Bb является активной протеазой, а сам комплекс C3bBb представляет собой C3-конвертазу альтернативного пути, гомологичную C3-конвертазе (C4b2a) классического пути активации системы комплемента. Комплекс C3bBb стабилизируется на мембране сывороточным белком Р (пропердин). Это приводит к массивной наработке компонента C3b, связывающегося с микробом и вновь воспроизводящего указанный путь активации системы. Более того, комплекс C3bBb, присоединяя молекулу C3b (формируется комплекс C3bBb3b), является активной C5-конвертазой, обеспечивающей расщепление компонента C5 до фрагментов C5a и C5b. Следует отметить, что фрагмент C5a, как и фрагмент C3a, является анафилатоксином — активирует тучные клетки (секрецию содержимого гранул) и гладкие мышцы (сокращение). Кроме того, фрагмент C5a активирует моноциты и нейтрофилы, а также экспрессию на фагоцитах рецепторов для компонентов комплемента — CR1 и CR3. Под влиянием фрагмента C5b в реакцию вступают компоненты комплемента C6, C7, C8 и C9. Реакция завершается образованием мембраноатакующего комплекса C5b, C6, C7, C8, C9, перфорирующего мембрану микроба и вызывающего его лизис. Заключительные этапы активации системы протекают следующим образом: молекула C5b связывает компонент C6, комплекс C5b6 присоединяет компонент C7. Через гидрофобный домен компонента C7 комплекс C5b67 встраивается в фосфолипидный бислой микроба. К комплексу C5b67 гидрофобными доменами пристраиваются компоненты C8 и C9. Фрагмент C8 β компонента C8 присоединяется к молекуле C5b, а фрагмент C8 $\alpha\gamma$ встраивается в фосфолипидный бислой клетки-мишени. При этом фрагмент C8 $\alpha\gamma$ катализует 10–16 молекул C9, в результате чего образующийся полимер формирует неспадающие поры в микробной мембране.

Классический путь активации системы комплемента (см. рис. 1) инициируется комплексом антиген-антитело (IgM, IgG), который связывает фрагмент C1q компонента C1 на поверхности микроба, но не в растворе. Компонент C1 состоит из восьми фрагментов — C1r, C1s и шести молекул C1q, процесс активации индуцируется присоединением не менее двух молекул C1q к Fc-фрагментам иммуноглобулина комплекса антиген-антитело и активацией протеазы C1r, отщепляющей от компонента C1 сериновую протеазу C1s. Эти ранние этапы активации системы комплемента сопровождаются образованием активного комплекса антиген-антитело-C1qr₂S₂, сериновая протеаза которого расщепляет компонент системы комплемента C4