

ВИРУСОЛОГИЯ

УДК 578.74

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РОТАВИРУСА: НОВЫЕ СТРАТЕГИИ И РАЗРАБОТКИ

О.А. Кондакова*, Н.А. Никитин, Е.А. Трифонова, И.Г. Атабеков, О.В. Карпова

Кафедра вирусологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

**e-mail: olgakond1@yandex.ru*

Ротавирусная инфекция – инфекционное заболевание, вызванное ротавирусами. Она является главной причиной тяжелых диарей у детей во всем мире и одним из факторов, определяющих детскую смертность. В настоящее время для вакцинации против ротавирусной инфекции используются только живые ослабленные (аттенуированные) вакцины. Данные вакцины эффективны, но обладают рядом побочных действий, прежде всего, риском возникновения инвагинации кишечника. Осложнения при применении существующих вакцин, как правило, связаны с пероральным введением препаратов и возникают в результате размножения ослабленных живых вакцин в кишечнике человека. В связи с этим, существует необходимость создания современных, эффективных и безопасных препаратов для борьбы с ротавирусной инфекцией, не способных размножаться (реплицироваться) в организме вакцинируемого. В последние годы стали активно разрабатываться и испытываться вакцины нового поколения против ротавирусной инфекции – рекомбинантные вакцины, в том числе, парентерального введения. При этом одной из проблем при создании таких вакцин является сложная антигенная структура ротавируса. В данном обзоре представлен анализ литературы о генетическом и антигенном разнообразии штаммов ротавирусов и географической локализации их эпидемически значимых вариантов. Обсуждаются роль капсидных белков в формировании иммунного ответа на вирус и современное состояние разработок новых кандидатных рекомбинантных вакцин против ротавирусной инфекции.

Ключевые слова: ротавирус, вакцины, капсидный белок, рекомбинантные антигены, вирусоподобные частицы, адьювант

В настоящее время острые кишечные инфекции занимают одно из ведущих мест среди инфекционных заболеваний у детей в возрасте до пяти лет. Ротавирусы (РВ) группы А являются наиболее распространенной причиной тяжелого гастроэнтерита у детей младшего возраста во всем мире. Ежегодно регистрируется два миллиона госпитализаций, 24 млн амбулаторных обращений. Около 215 тыс. детей в возрасте до пяти лет погибает от ротавирусного гастроэнтерита, при этом до 56% летальных случаев фиксируют в Африке и 22% – в Индии [1–3]. Однако эпидемиологические исследования показывают, что и в экономически развитых странах данная проблема стоит достаточно остро [4]. Существующие в настоящее время вакцины для профилактики ротавирусной инфекции (РВИ) – моновалентная Rotarix и пентавалентная RotaTeq – основаны на живых ослабленных (аттенуированных) штаммах вирусов человека и/или животных, которые способны размножаться в кишечнике человека. Внедрение ротавирусных вакцин значительно сократило количество госпитализаций от РВИ [5], но в результате вакцинации возможны побочные явления и, прежде всего, развитие инвагинации кишечника. Дополнительные риски связаны с зафиксированными случаями появления новых реассортантов

между вакцинными штаммами и циркулирующими вирусами дикого типа. Также существует потенциальная опасность реверсии вакцинных штаммов в вирулентные. Кроме этого, в связи со стоимостью, жесткими условиями транспортировки и хранения аттенуированных вакцин эффективность их применения в экономически неразвитых странах значительно ниже, чем в странах с высоким уровнем жизни. Из-за недостатков аттенуированных вакцин разрабатываются современные рекомбинантные вакцины против РВИ с целью повышения эффективности, безопасности и снижения стоимости препаратов. Предполагается, что такие серьезные последствия применения аттенуированных вакцин, как инвагинация кишечника, связаны с репликацией пероральной вакцины в кишечнике и могут быть преодолены при использовании нереплицирующихся (не способных размножаться в организме вакцинируемого) вакцин парентерального введения. Парентеральные вакцины успешно используются для профилактики заболеваний, вызванных такими мукозальными патогенами, как полиовирус, вирус гепатита А и холерный вибрион. В качестве альтернативы широко используемым сейчас вакцинам инактивированные ротавирусные частицы также пытаются вводить парентерально при вакцинации [6]. Новые кандидат-

ные вакцины следующего поколения против РВИ, главным образом, рекомбинантные вакцины, в том числе парентерального введения, находятся на различных стадиях разработок, доклинических и клинических исследований.

В данном обзоре представлен анализ литературы о генетическом и антигенном разнообразии штаммов РВ, географической локализации их эпидемически значимых вариантов. Обсуждаются роль капсидных белков в формировании иммунного ответа на вирус и современное состояние разработок новых кандидатных рекомбинантных вакцин против РВИ.

Структура вириона ротавирусов

РВ относятся к представителям семейства *Reoviridae* рода *Rotavirus*. Геном РВ состоит из 11 сегментов двухцепочечной РНК, кодирующих шесть структурных (VP1–VP4, VP6 и VP7) и пять или шесть неструктурных (NSP1–NSP6) белков в зависимости от штамма [7, 8]. Зрелая инфекционная частица РВ (вирион) имеет форму, близкую к сферической (около 100 нм в диаметре) и состоит из трех концентрических белковых слоев (triple-layered particle, TLP). Внутренний слой – кор (от англ. core – ядро), диаметром около 40 нм – представляет собой икосаэдр ($T = 1$), состоящий из 60 асимметричных димеров белка VP2, в который заключен вирусный геном и два минорных белка, VP1 и VP3 (ферменты транскрипции). VP1 и VP3 закорены на внутренней оболочке вируса, образованной белком VP2 в области, прилегающей к 12 каналам, проходящим по осям симметрии пятого порядка. Кор вириона окружен 260 тримерами белка VP6, которые образуют средний слой ($T = 13$) и формируют неинфекционные транскрипционно-активные двухслойные частицы диаметром около 80 нм (double-layered particles, DLP). РВИ эффективно иницируется, когда DLP попадает в цитоплазму и начинается синтез вирусных транскриптов. Внешний слой, так же как и средний, является икосаэдрическим капсидом и состоит из 260 тримеров гликопротеина VP7 ($T = 13$) и содержит 60 шипов, образованных асимметричными тримерами белка VP4 [9–14]. Белки VP4 и VP7 являются главными мишенями вируснейтрализующих антител. VP4 расщепляется трипсиноподобными протеазами на два домена VP5* и VP8*, при этом инфекционность вируса значительно усиливается. Одной из отличительных характеристик структуры вириона РВ является наличие 132 каналов трех типов, проникающих через внешний и средний слои. Эти каналы включают в себя 12 каналов типа I, расположенных по осям симметрии пятого порядка, 60 каналов типа II, окружающих каналы I типа, и 60 каналов типа III, окружающие оси симметрии третьего порядка. Каналы типа I присутствуют в слое белка VP2 и служат в качестве выходных каналов для вирусных мРНК во время транскрипции [7].

Классификация ротавирусов, разнообразие штаммов

При классификации РВ их разделяют по меньшей мере на восемь групп (А–Н) на основе антигенных различий белка VP6 [15]. Представители групп А, В, С и Н способны инфицировать человека и других животных, а D, E, F и G были обнаружены только у птиц или свиней. Недавно два штамма, выделенные у собак и летучих мышей, были предварительно отнесены к двум новым группам РВ I и J [15–19]. Большинство заболеваний у людей во всем мире вызываются штаммами РВ группы А [20, 21]. Они были разделены, в свою очередь, на четыре серологические подгруппы, обозначаемые SG I, II, I+II и non I/II в зависимости от наличия или отсутствия VP6-специфических эпитопов. Штаммы, инфицирующие человека, относятся преимущественно к подгруппам SG I или SG II и имеют высокую степень консервативности (87–95%) аминокислотной последовательности белка VP6 [22].

Существует также бинарная классификация штаммов РВ, основанная на последовательности двух структурных белков наружного капсида вируса VP7 (G-протеин) и VP4 (P-протеин), к которым вырабатываются вируснейтрализующие антитела и которые являются основными антигенами. В ней отражаются комбинации серотипов G и P РВ [23]. Система классификации серотипов в настоящее время почти полностью заменена системой классификации генотипов G и P, основанной на различиях в последовательности соответствующих сегментов РНК, кодирующих эти белки. Было показано, что серотипы G (белка VP7) в значительной степени согласуются с генотипами G; таким образом, было принято единое обозначение. Двойная номенклатура была принята для классификации серотипа и генотипа белка VP4: серотипу P, когда он известен (например, P1A), соответствует генотип P в квадратных скобках (например, P[8]). Если оба они известны, серотип P предшествует генотипу P (например, P1A[8]). В настоящее время известно 27 генотипов G и 37 генотипов P (далее для краткости – типы G и P) РВ А человека и животных [24, 25]. Разнообразие штаммов велико и связано с сегментированной природой генома и возможностью реассортации. К 2012 г. 12 G-типов, 15 P-типов и более 70 комбинаций типов G–P РВ А описано у человека (табл. 1) [19, 26]. В 2015 г. описано уже 14 типов G, 17 типов P и около 90 комбинаций G–P [27]. Зафиксировано появление новых комбинаций типов G–P, в том числе, вызывающих локальные вспышки даже в вакцинированных популяциях.

В целом, штаммы РВ, способные заражать человека, распространены по всему миру, хотя различия можно выявить в определенных регионах, как и сезонные колебания проявления инфекции в течение календарного года. По данным метаанализа, в период 1989–2004 гг. четыре типа G (G1, G2, G3 и G4) в комбинации с P[8] или P[4] составляли

Таблица 1

Штаммы ротавируса А человека, различающиеся по комбинации антигенов G и P. (+++) – часто встречающиеся комбинации (74,7% всех штаммов); (++) – редко встречающиеся комбинации (0,2–2%); (+) – эпизодически встречающиеся комбинации (<0,2%); (–) – до настоящего времени не идентифицированы. Данные взяты из [26]

	P[1]	P[2]	P[3]	P[4]	P[5]	P[6]	P[7]	P[8]	P[9]	P[10]	P[11]	P[14]	P[19]	P[25]	P[28]
G1	+	–	+	++	–	++	–	+++	+	+	+	+	+	–	–
G2	–	–	–	+++	–	++	–	++	+	+	+	–	–	–	–
G3	–	–	+	++	–	++	–	+++	+	+	+	+	+	–	–
G4	+	–	–	++	–	++	–	+++	+	+	+	+	–	–	–
G5	+	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
G6	–	–	–	+	–	+	–	+	+	–	+	+	–	–	–
G8	+	+	–	++	–	++	–	++	–	+	–	+	–	–	–
G9	–	–	–	++	+	++	–	+++	+	+	+	–	+	–	–
G10	–	–	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	–	–	–
G11	–	–	–	+	–	+	–	+	–	–	–	–	–	+	–
G12	–	–	–	+	–	++	–	++	+	–	–	–	–	–	–
G20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+

88% всех штаммов вируса, вызывавших РВИ. При этом штаммы с типом G1P[8] представляли более 70% РВИ в Северной Америке, Европе и Австралии, но только около 30% инфекций в Южной Америке и Азии и 23% – в Африке. Кроме того, в Африке штаммы с типом P [6] представляли одну треть всех идентифицированных штаммов [28]. Проведенный в 2007–2012 гг. метаанализ показал, что наиболее распространенными комбинациями типов G и P являются G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9[8] и G12P[8], составляя 73% циркулирующих штаммов при доминировании G1P[8] [27].

В 2008 г. была предложена система классификации РВ на основе нуклеотидного анализа всех одиннадцати сегментов РНК. Данная система классификации позволяет лучше понять геномное и антигенное разнообразие штаммов РВ. Система предписывает определенный генотип для каждого из 11 сегментов РНК, и гены VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 различных штаммов РВ А описывают с использованием аббревиатуры Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Eх-Nх. На основе данной классификации подавляющее большинство всех штаммов РВ А человека относится к одной из двух типичных групп генотипов (отличающихся от G и P), называемых Wa-like (I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1) и DS-1-подобными (I2-R2-C2-M2-A2-H2-T2-EH2) [29].

Роль капсидных белков VP7, VP4 и VP6 ротавируса в формировании иммунного ответа

Многочисленные исследования показали важность гуморального звена иммунитета в защите от РВИ. Чибя с соавторами [30] впервые показал, что

защита от РВ связана с уровнями нейтрализующих антител против гомологичного серотипа вируса. Уровень нейтрализующих антител, который был равен или превышал 1/128, обеспечивал защиту от заболевания. В дальнейших исследованиях было показано, что наряду с гомотипическими антителами, нацеленными против вируса того типа, который вызвал РВИ, у детей также обнаруживают и гетеротипические антитела, способные нейтрализовать другие варианты (с другими G–P-типами) вируса, что свидетельствует о наличии перекрестно-реактивных вируснейтрализующих эпитопов [31, 32].

В ряде работ показано, что белки внешнего слоя VP4 и VP7 капсида являются главными мишенями вируснейтрализующих антител. Под действием трипсина белок VP4 расщепляется на два домена – VP8* и VP5*. VP8* образует головку шипа вириона и взаимодействует с рецепторами клетки. В частности, недавно было показано, что VP8* может взаимодействовать специфическим образом с антигенами групп крови системы HВGA (histo-blood group antigens), экспрессируемыми на эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника [33–35]. Было высказано предположение (по аналогии с норовирусом), что антитела к домену VP8* могут блокировать взаимодействие РВ с HВGA, предотвращая адсорбцию вириона, и тем самым обеспечивать защиту. Продуктивная инфекция, вызываемая многими типами РВ А, включая штаммы человека, в пермиссивных клетках также зависит от связывания вирионов с рецепторами семейства интегринов. Показано, что моноклональные нейтрализующие антитела ингибируют связывание домена VP5* с интегрином α2β1 и белка VP7 с интегрином α4β1 [36]. Вируснейтрализующие

эпитопы идентифицированы для белков VP5*, VP8* и VP7 [37–41]. Несмотря на очевидную роль специфических антител к VP4 и VP7 в эффективной защите против вируса, предполагается, что белок VP6 также является важным фактором иммунного ответа [42]. VP6-специфические антитела вырабатываются в большом количестве после инфекции и вакцинации [43] и являются основными антителами, продуцируемыми В-клетками в ответ на РВИ [44–46]. Несмотря на отсутствие нейтрализующих эпитопов, недавно продемонстрирован необычный механизм внутриклеточной нейтрализации вируса VP6 – специфическими антителами. Было показано, что антитела против VP6 ингибируют внутриклеточную вирусную транскрипцию путем связывания каналов первого типа, которое приводит к блокировке выхода мРНК из DLP [47].

Хотя роль Т-клеточного иммунного ответа в защите от РВ мало изучена, хроническая РВИ у детей с иммунодефицитом Т- и/или В-клеток указывает на важность как гуморального, так и клеточного звеньев иммунитета [48]. Показано, что VP6-специфические Т-хелперы CD4(+) вносят значительный вклад в индукцию протективного иммунного ответа [49, 50]. В ряде работ были идентифицированы CD4(+)-Т-клеточные эпитопы белка VP6 [51, 52].

Живые аттенуированные вакцины

В настоящее время две живые аттенуированные вакцины – моновалентная Rotarix (GlaxoSmith-Kline, Бельгия) (RV1) и пентавалентная RotaTeq (Merck & Co., США) (RV5) – широко используются для иммунизации детей более чем в 100 странах. Кроме этого, три живые аттенуированные моновалентные вакцины получили национальное лицензирование и используются в Индии, Китае и Вьетнаме. Кроме того, несколько кандидатных вакцин – как моновалентных, так и мультивалентных – находятся на различных стадиях клинических испытаний [53].

Вакцина Rotarix получена на основе аттенуированного штамма человека RIX4414 генотипа G1P1A [8]. В состав вакцины RotaTeq входит пять монореассортантных штаммов, полученных на основе бычьего штамма SW3 (G6P7[5]) и представляющих генотипы G1, G2, G3, G4 и P1A[8] человека. Анализ данных, полученных исследователями 24 стран и опубликованных в научных изданиях (48 статей) с 2006 г. по 2016 г., показал, что эффективность вакцин RV1 и RV5 в предотвращении ротавирусной диареи примерно одинакова: медиана для RV1 составляет 84%, 75% и 57% в странах с низким, средним и высоким уровнем детской смертности, соответственно, и для RV5 – 90% в странах с низкой и 45% – в странах с высокой степенью детской смертности [54]. Несмотря на то, что обширные клинические испытания, проводимые до лицензирования вакцин, подтверждают, что RV1 и RV5 – вакцины безопасные, последнее время на-

капливаются данные о серьезном побочном их действии – кишечной инвагинации. Недавнее исследование, проведенное в США, показало, что частота инвагинации значительно увеличилась среди младенцев, которые были вакцинированы RV1: с 0,72 до 5,3 случая на 100 тыс. вакцинированных [55]. Похожие данные были получены и для RV5 в Австралии и США [56, 57]. Метаанализ, проведенный в 2017 г., показал, что риск инвагинации зависит от возраста вакцинируемого и составляет примерно один случай на 50 тыс. вакцинированных детей, если вакцинация происходит в возрасте до 12 нед., и один случай на 20 тыс. вакцинированных детей, если первая вакцинация была проведена позже [58]. Эти данные вызывают серьезные опасения, так как первый вариант реассортантной вакцины, лицензированный в США, был отозван в 1999 г., через один год после начала использования, в связи с увеличившейся частотой инвагинации кишечника до десяти случаев на 100 тыс. вакцинированных [59]. Дополнительные риски связаны с зафиксированными случаями появления новых реассортантов между вакцинными штаммами и циркулирующими вирусами дикого типа [60–63]. Также существует потенциальная опасность реверсии вакцинных штаммов в вирулентные. Кроме этого, были получены данные, что вакцинные препараты RV1 и RV5 контаминированы ДНК свиного цирковируса типа 1 (PCV1) и типа 2 (PCV2), соответственно [64].

Однако главной проблемой использования RV1 и RV5 является снижение эффективности пероральных вакцин в странах с низким уровнем жизни, которое предположительно связывают с высокими уровнями специфических материнских антител против РВ, приобретенных либо трансплацентарно, либо путем грудного вскармливания; с кишечными коинфекциями; с разницей в серотипах между вакцинными и циркулирующими штаммами РВ и дефицитом витаминов и Zn [65, 66]. Кроме этого, в условиях возрастающей миграционной активности во всем мире также увеличивается вероятность падения эффективности вакцинопрофилактики при возникновении и распространении новых эпидемиологически значимых штаммов РВ [67].

Рекомбинантные вакцины

В качестве нового направления борьбы против РВИ в последнее время были предложены вакцины на основе рекомбинантных вирусных и бактериальных векторов. В работе Ксиа с соавторами [68] показано, что внутримышечная и интраназальная иммунизация мышей рекомбинантным аденовирусом, несущим гены VP4 и NSP4 РВ, эффективно стимулирует иммунный ответ и обеспечивает значительную защиту от инфекции у новорожденных мышей. Жирард с соавт. [69] создали другой рекомбинантный аденовирусный вектор, несущий гены белков VP4 и VP7 и бактериального белка флагеллина в качестве адъюванта. Проведено исследова-

ние антигенной специфичности и иммуногенности рекомбинантной вакцины на мышах и показана потенциальная возможность ее применения. Несколько научных групп разрабатывают вакцины против РВИ на основе бактериального вектора с использованием непатогенного штамма *Lactococcus lactis*. Была продемонстрирована эффективная стимуляция иммунного ответа на белки РВ (полученных из штаммов РВ различных видов животных) VP7 [70], VP8 [71], VP4 [72] и VP6 [73] при их пероральном введении мышам в составе рекомбинантного вектора на основе *L. lactis*. Однако данные подходы пока находятся только на стадии разработок и ранних доклинических исследований.

Экспериментальные ДНК-вакцины, кодирующие белки VP4, VP6 или VP7 [74–81], разрабатываются с 1996 г., однако в последние десять лет, насколько нам известно, не было опубликовано работ, в которых сообщалось бы о разработке ДНК-вакцин против РВИ.

Другой перспективный подход связан с получением вирусоподобных частиц (ВПЧ) РВ. ВПЧ получают из структурных вирусных белков, и они имеют сходную с нативным вирусом пространственную структуру и антигенные свойства. ВПЧ лишены вирусного генетического материала, что обеспечивает их безопасность. Многочисленные исследования показали, что одновременная экспрессия структурных белков РВ в клетке приводит к образованию ВПЧ путем самосборки. Были сделаны попытки получить ВПЧ РВ в растениях [82] и клетках млекопитающих [83], однако наиболее успешно используется бакуловирусная система экспрессии в клетках насекомых [84–89]. В отсутствие других белков VP2 формирует пустые частицы. Одновременная коэкспрессия белков VP2 и VP6 приводит к образованию *in vivo* двухслойных ВПЧ (2/6-ВПЧ), сходных с DLP, тогда как совместная экспрессия VP2, VP6 и VP7 с VP4 или без него приводит к формированию трехслойных ВПЧ (2/6/7-ВПЧ или 2/4/6/7-ВПЧ), напоминающих инфекционные TLP. Доклинические исследования на различных моделях животных показали иммуногенность таких ВПЧ и различные уровни защиты от последующего заражения вирусом. Эффективность защиты зависела от композиции белков в ВПЧ, способа введения, типа адъюванта и вида животных. В частности, показано, что 2/6-ВПЧ иммуногенны и обеспечивают частичную защиту у мышей, но не на модели новорожденных гнотобиотических поросят [89–92]. Получение 2/4/6/7-ВПЧ, содержащих белок VP8, сопряжено с определенными сложностями и имеет ограничения, связанные с низким выходом таких частиц. Поэтому для создания различных биоинженерных ВПЧ, несущих на своей поверхности антигенные детерминанты РВ, пытаются использовать капсидные белки других вирусов. Кандидатная вакцина, содержащая 24 копии фрагмента VP8* (аминокислотные остатки 64–223), была получена с использованием частицы норовируса Р в качестве

носителя [93]. Испытания на животных (мышях) показали более высокие титры VP8*-специфических и нейтрализующих антител по сравнению с теми, которые были вызваны свободным VP8*, и значительно более высокие уровни защиты от РВИ. Основываясь на том же принципе, сконструировали рекомбинантные вакцины на основе белка VP8*, находящегося в комплексе с белками-носителями вирусной природы [94]. Существует разработка, основанная на экспрессии в *E. coli* рекомбинантного белка VP8* вместе с белком-носителем (структурным белком мышинового полиомавируса) и дальнейшей сборке ВПЧ *in vitro*. Это позволило повысить выход ВПЧ и снизить стоимость кандидатной вакцины [95]. Несмотря на многочисленные разработки и публикации кандидатные ВПЧ-вакцины против РВИ пока находятся только на стадии доклинических исследований.

Группа МакНил разработала рекомбинантную вакцину, содержащую белок VP6, слитый с мальтозо-связывающим белком (MBP-VP6). После иммунизации мышей MBP-VP6 была продемонстрирована 100%-ная способность к защите от двух штаммов мышинового РВ. Однако этот результат был получен только в присутствии дополнительного адъюванта [96, 97].

В работе Духовлинова с соавт. [98] показано, что рекомбинантная вакцина на основе гибридного белка FliCVP6VP8, включающего фрагмент белка VP6, фрагмент белка VP8 РВ А, а также компоненты флагеллина *Salmonella typhimurium* FliC в качестве адъюванта, эффективна против РВИ у мышей. Был показан высокий уровень защиты, возникающий при двукратном внутримышечном введении кандидатной вакцины. Полная защита от мышинового штамма РВ после его перорального введения иммунизированным кандидатной вакциной животным связана с продукцией вирусспецифических IgA и IgG в кишечнике и сыворотке крови животных. По мнению авторов, эффективность кандидатной вакцины против РВИ на основе рекомбинантного белка FliCVP6VP8 сопоставима с эффективностью коммерческой вакцины RV1, но первой свойственна большая безопасность.

Наиболее успешной из рекомбинантных кандидатных вакцин является вакцина, полученная при экспрессии в *E. coli* белка VP8* штамма вируса человека Wa (G1P1A[8]). Было показано, что при парентеральном введении животным рекомбинантного белка VP8 индуцируются высокие титры гомотипических нейтрализующих антител и титры различного уровня гетеротипических нейтрализующих антител против разных штаммов РВ. Иммуногенность значительно повышалась, когда в генетическую конструкцию включали универсальный CD4(+)-Т-клеточный эпитоп столбнячного токсина P2. Первая фаза клинического исследования новой парентеральной вакцины P2-VP8-P[8], адсорбированной на гидроксиде алюминия в качестве адъюванта, продемонстрировала безопасность и

Таблица 2

Кандидатные рекомбинантные вакцины

Вакцины	Антигенные детерминанты	Источники
Субъединичные рекомбинантные вакцины: VP6 VP8* P2-VP8*-P[8] FliCVР6VP8 MBP-VP6	VP6 VP8* VP8* VP6 + VP8 VP6	[89] [94] [99, 100] [98] [96, 97]
Вакцины на основе вирусоподобных частиц: 2/6-ВПЧ РВ 2/6/7-ВПЧ РВ 8-2/6/7-ВПЧ РВ 8*-2/6/7-ВПЧ РВ 2/4/6/7-ВПЧ РВ VP8*-ВПЧ норовируса VP8*-ВПЧ мышинного полиомавируса	VP2 + VP6 VP2 + VP6 + VP7 VP8-VP2 + VP6 + VP7 VP8*-VP2 + VP6 + VP7 VP2 + VP4 + VP6 + VP7 VP8* VP8*	[82–85, 87, 90, 92] [86, 91] [88] [91] [86] [93] [95]
Вакцины на основе аденовирусных векторов	VP4 + NSP4 VP4 + VP7	[68] [69]
Вакцины на основе бактериальных векторов	VP7 VP8 VP4 VP6	[70] [71] [72] [73]
ДНК-вакцины	VP4, VP6, VP7 VP6	[74, 75, 76, 77] [78–81]

иммуногенность у взрослых и детей разного возраста [99, 100]. Вируснейтрализующие антитела против гомологичного штамма Wa и штамма 89-12 (G1P[8]) были выявлены более чем у 80% младенцев. Вируснейтрализующие гетеротипические антитела к штамму Ds-1 (G2P[4]) и к штамму 1076 (G2P[6]) выявлялись у 32–50% и 17–23% детей, соответственно [100]. Вакцинация P2-VP8-P[8] не оказывала отрицательного влияния на последующий иммунный ответ на RV1, что крайне важно для совместного использования парентеральных и пероральных вакцин с целью достижения оптимальной защиты. Информация о разрабатываемых рекомбинантных вакцинах обобщена в табл. 2.

Живые аттенуированные вакцины против РВИ достаточно эффективны в странах с высоким уровнем доходов. Однако риски, связанные с их применением, и низкая эффективность в экономически неразвитых странах с высокой детской смертностью свидетельствует о необходимости разработки новых подходов для создания вакцин против РВ. Рекомбинантные вакцины, в том числе парентерального введения, являются альтернативной стратегией борьбы с РВИ. Разработка эффективной и

безопасной рекомбинантной вакцины значительно осложняется рядом факторов, прежде всего разнообразием антигенных детерминант и их вариабельностью внутри генотипа, а также ограниченными и противоречивыми данными о механизмах защиты против широкого спектра генотипов и штаммов РВ. Структурные белки РВ VP4, VP6 и VP7, которые содержат основные эпитопы, способные активировать сильный защитный иммунный ответ, являются основой для создания современных вакцин. Многообещающими являются субъединичные рекомбинантные вакцины, в том числе полученные с использованием белков-носителей, а также вакцины на основе вирусоподобных частиц. Такие нереплицирующиеся вакцины будут безопасны, а процесс их получения должен стать более быстрым и экономичным по сравнению с производством новых аттенуированных вакцин. Это позволит оперативно реагировать на меняющуюся эпидемиологическую обстановку и учитывать географические различия в распространении РВ с различными генотипами.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект N 14-24-00007).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tate J.E., Burton A.H., Boschi-Pinto C., Parashar U.D., World Health Organization—Coordinated Global Rotavirus Surveillance Network, Agoos M., Serhan F., de Oliveira L., Mwenda J.M., Mihigo R., Ranjan Wijesinghe P. Global, regional, and national estimates of rotavirus mortality in children <5 years of age, 2000–2013 // Clin. Infect. Dis. 2016. Vol. 62. Suppl. 2. P. S96–S105.

2. Parashar U.D., Gibson C.J., Bresee J.S., Glass R.I. Rotavirus and severe childhood diarrhea // Emerg. Infect. Dis. 2006. Vol. 12. N 2. P. 304–306.

3. Walker C.L., Rudan I., Liu L., Nair H., Theodoratou E., Bhutta Z.A., O'Brien K.L., Campbell H., Black R.E. Global burden of childhood pneumonia and diarrhea // Lancet. 2013. Vol. 381. N 9875. P. 1405–1416.

4. *Desai R., Curns A.T., Steiner C.A., Tate J.E., Patel M.M., Parashar U.D.* All-cause gastroenteritis and rotavirus-coded hospitalizations among US children 2000–2009 // *Clin. Infect. Dis.* 2012. Vol. 55. N 4. P. 28–34.
5. *Burnett E., Jonesteller C.L., Tate J.E., Yen C., Parashar U.D.* Global impact of rotavirus vaccination on childhood hospitalizations and mortality from diarrhea // *J. Infect Dis.* 2017. Vol. 215. N 11. P. 1666–1672.
6. *Jiang B., Genstch J.R., Glass R.I.* Inactivated rotavirus vaccines: a priority for accelerated vaccine development // *Vaccine.* 2008. Vol. 26. N 52. P. 6754–6758.
7. *Estes M.K., Kapikian A.* Rotaviruses // *Fields virology* / Eds. D.M. Knipe, P.M. Howley, J.I. Cohen, D.E. Griffin, R.A. Lamb, M.A. Martin, V.R. Racaniello, and B. Roizman. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. P. 1917–1974.
8. *Ciarlet M., Estes M.K.* Rotaviruses: basic biology, epidemiology and methodologies // *Encyclopedia of environmental microbiology* / Eds. G. Bitton, D.L. Balkwill, R.S. Burlage, et al. N.Y.: John Wiley & Sons, 2003. P. 2573–2773.
9. *Chen J.Z., Settembre E.C., Aoki S.T., Zhang X., Bellamy A.R., Dormitzer P.R., Harrison S.C., Grigorieff N.* Molecular interactions in rotavirus assembly and uncoating seen by high-resolution cryo-EM // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2009. Vol. 106. N 26. P. 10644–10648.
10. *Jayaram H., Estes M.K., Prasad B.V.* Emerging themes in rotavirus cell entry, genome organization, transcription and replication // *Virus Res.* 2004. Vol. 101. N 1. P. 67–81.
11. *McClain B., Settembre E., Temple B.R., Bellamy A.R., Harrison S.C.* X-ray crystal structure of the rotavirus inner capsid particle at 3.8 Å resolution // *J. Mol. Biol.* 2010. Vol. 397. N 2. P. 587–599.
12. *Settembre E.C., Chen J.Z., Dormitzer P.R., Grigorieff N., Harrison S.C.* Atomic model of an infectious rotavirus particle Atomic model of an infectious rotavirus particle // *EMBO J.* 2011. Vol. 30. N 2. P. 408–416.
13. *Mathieu M., Petitpas I., Navaza J., Lepault J., Kohli E., Pothier P., Prasad B.V., Cohen J., Rey F.A.* Atomic structure of the major capsid protein of rotavirus: implications for the architecture of the virion // *EMBO J.* 2001. Vol. 20. N 7. P. 1485–1497.
14. *Long C.P., McDonald S.M.* Rotavirus genome replication: Some assembly required // *PLoS Pathog.* 2017. Vol. 13. N 4. e1006242.
15. *Matthijssens J., Otto P.H., Ciarlet M., Desselberger U., Van Ranst M., Johne R.* VP6-sequence-based cutoff values as a criterion for rotavirus species demarcation // *Arch. Virol.* 2012. Vol. 157. N 6. P. 1177–1182.
16. *Estes M.K., Greenberg H.B.* Rotaviruses // *Fields Virology* / Eds. D.M. Knipe and P. Howley. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013. P. 1347–1395.
17. *Mihalov-Kovacs E., Gellert A., Marton S., Farkas S.L., Feher E., Oldal M., Jakab F., Martella V., Banyai K.* Candidate new rotavirus species in sheltered dogs, Hungary // *Emerg. Infect. Dis.* 2015. Vol. 21. N 4. P. 660–663.
18. *Banyai K., Kemenesi G., Budinski I., Földes F., Zana B., Marton S., Varga-Kugler R., Oldal M., Kurucz K., Jakab F.* Candidate new rotavirus species in Schreiber's bats, Serbia // *Infect. Genet. Evol.* 2017. Vol. 48. P. 19–26.
19. *Matthijssens J., Martella V., Van Ranst M.* Priority paper evaluation: genomic evolution, host-species barrier, reassortment and classification of rotaviruses // *Future Virol.* 2010. Vol. 5. N 4. P. 385–390.
20. *Desselberger U., Wolleswinkel-van den Bosch J., Mrukowicz J., Rodrigo C., Giaquinto C., Vesikari T.* Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination // *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2006. Vol. 25. N 1. P. S30–S41.
21. *Gray J., Vesikari T., Van Damme P., Giaquinto C., Mrukowicz J., Guarino A., Dagan R., Hania S., Vytautas U.* Rotavirus // *J. Pediatr. Gastroenterol.* 2008. Vol. 46. Suppl. 2. P. S24–S31.
22. *Tang B., Gilbert J.M., Matsui S.M., Greenberg H.B.* Comparison of the rotavirus gene 6 from different species by sequence analysis and localization of subgroup-specific epitopes using site-directed mutagenesis // *Virology.* 1997. Vol. 237. N 1. P. 89–96.
23. *Hoshino Y., Kapikian A.Z.* Classification of rotavirus VP4 and VP7 serotypes // *Arch. Virol. Suppl.* 1996. Vol. 12. P. 99–111.
24. *Matthijssens J., Ciarlet M., McDonald S.M. et al.* Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG) // *Arch. Virol.* 2011. Vol. 156. N 8. P. 1397–1413.
25. *Trojanar E., Sachsenroder J., Twardziok S., Reetz J., Otto P.H., Johne, R.* Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotaviruses // *J. Gen. Virol.* 2013. Vol. 94. N 1. P. 136–142.
26. *Bányai K., László B., Duque J., Steele A.D., Nelson E.A., Gentsch J.R., Parashar U.D.* Systematic review of regional and temporal trends in global rotavirus strain diversity in the pre rotavirus vaccine era: insights for understanding the impact of rotavirus vaccination programs // *Vaccine.* 2012. Vol. 30. Suppl. 1. P. A122–A130.
27. *Dóró R., László B., Martella V., Leshe E., Gentsch J., Parashar U., Banyai K.* Review of global rotavirus strain prevalence data from six years post vaccine licensure surveillance: Is there evidence of strain selection from vaccine pressure? // *Infect. Genet. Evol.* 2014. Vol. 28. P. 446–461.
28. *Santos N., Hoshino Y.* Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine // *Rev. Med. Virol.* 2005. Vol. 15. N 1. P. 29–56.
29. *Matthijssens J., Van Ranst M.* Genotype constellation and evolution of group A rotaviruses infecting humans // *Curr. Opin. Virol.* 2012. Vol. 2. N 4. P. 426–433.
30. *Chiba S., Yokoyama T., Nakata S., Morita Y., Urasawa T., Taniguchi K., Urasawa S., Nakao T.* Protective effect of naturally acquired homotypic and heterotypic rotavirus antibodies // *Lancet.* 1986. Vol. 2. N 8504. P. 417–421.
31. *Gorrell R.J., Bishop R.F.* Homotypic and heterotypic serum neutralizing antibody response to rotavirus proteins following natural primary infection and reinfection in children // *J. Med. Virol.* 1999. Vol. 57. N 2. P. 204–211.
32. *Arias C.F., López S., Mascarenhas J.D., Romero P., Cano P., Gabbay Y.B., de Freitas R.B., Linhares A.C.* Neutralizing antibody immune response in children with primary and secondary rotavirus infections // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1994. Vol. 1. N 1. P. 89–94.
33. *Hu L., Crawford S.E., Czako R., Cortes-Penfield N.W., Smith D.F., Le Pendu J., Estes M.K., Prasad B.V.* Cell attachment protein VP8* of a human rotavirus specifically interacts with A-type histo-blood group antigen // *Nature.* 2012. Vol. 485. N 7397. P. 256–259.
34. *Huang P., Xia M., Tan M., Zhong W., Wei C., Wang L., Morrow A., Jiang X.* Spike protein VP8* of human rotavirus recognizes histo-blood group antigens in a type-specific manner // *J. Virol.* 2012. Vol. 86. N 9. P. 4833–4843.
35. *Ramani S., Cortes-Penfield N.W., Hu L., Crawford S.E., Czako R., Smith D.F., Kang G., Ramig R.F., Le Pendu J., Prasad B.V., Estes M.K.* The VP8* domain of neonatal rota-

- virus strain G10P[11] binds to type II precursor glycans // *J. Virol.* 2013. Vol. 87. N 13. P. 7255–7264.
36. Fleming F.E., Graham K.L., Taniguchi K., Takada Y., Coulson B.S. Rotavirus neutralizing antibodies inhibit virus binding to integrins alpha 2 beta 1 and alpha 4 beta 1 // *Arch. Virol.* 2007. Vol. 152. N 6. P. 1087–1101.
37. Dyal-Smith M.L., Lazdins I., Tregear G.W., Holmes I.H. Location of the major antigenic sites involved in rotavirus serotype-specific neutralization // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1986. Vol. 83. N 10. P. 3465–3468.
38. Larralde G., Li B.G., Kapikian A.Z., Gorziglia M. Serotype-specific epitope(s) present on the VP8 subunit of rotavirus VP4 protein // *J. Virol.* 1991. Vol. 65. N 6. P. 3213–3218.
39. Kovacs-Nolan J., Yoo D., Mine Y. Fine mapping of sequential neutralization epitopes on the subunit protein VP8 of human rotavirus // *Biochem. J.* 2003. Vol. 376. N 1. P. 269–275.
40. Taniguchi K., Maloy W.L., Nishikawa K., Green K.Y., Hoshino Y., Urasawa S., Kapikian A.Z., Chanock R.M., Gorziglia M. Identification of cross-reactive and serotype 2-specific neutralization epitopes on VP3 of human rotavirus // *J. Virol.* 1988. Vol. 62. N 7. P. 2421–2426.
41. Coulson B.S., Kirkwood C. Relation of VP7 amino acid sequence to monoclonal antibody neutralization of rotavirus and rotavirus monotype // *J. Virol.* 1991. Vol. 65. N 11. P. 5968–5974.
42. Angel J., Franco M.A., Greenberg H.B. Rotavirus immune responses and correlates of protection // *Curr. Opin. Virol.* 2012. Vol. 2. N 4. P. 419–425.
43. Svensson L., Sheshberadaran H., Vene S., Norrby E., Grandien M., Wadell G. Serum antibody responses to individual viral polypeptides in human rotavirus infections // *J. Gen. Virol.* 1987. Vol. 68. N 3. P. 643–651.
44. Weitkamp J.H., Kallewaard N., Kusuhara K., Bures E., Williams J.V., LaFleur B., Greenberg H. B., Crowe J.E. Infant and adult human B cell responses to rotavirus share common immunodominant variable gene repertoires // *J. Immunol.* 2003. Vol. 171. N 9. P. 4680–4688.
45. Weitkamp J.H., Kallewaard N.L., Bowen A.L., LaFleur B.J., Greenberg H.B., Crowe J.E. VH1-46 is the dominant immunoglobulin heavy chain gene segment in rotavirus-specific memory B cells expressing the intestinal homing receptor alpha4beta7 // *J. Immunol.* 2005. Vol. 174. N 6. P. 3454–3460.
46. Nair N., Newell E.W., Vollmers C., Quake S.R., Morton J.M., Davis M.M., He X.S., Greenberg H.B. High-dimensional immune profiling of total and rotavirus VP6-specific intestinal and circulating B cells by mass cytometry // *Mucosal Immunol.* 2016. Vol. 9. N 1. P. 68–82.
47. Aiyegbo M.S., Sapparapu G., Spiller B.W., Eli I.M., Williams D.R., Kim R., Lee D.E., Liu T., Li S., Woods V.L.Jr, Nannemann, D.P., Meiler J., Stewart P.L., Crowe J.E.Jr. Human rotavirus VP6-specific antibodies mediate intracellular neutralization by binding to a quaternary structure in the transcriptional pore // *PLoS One.* 2013. Vol. 8. N 5. e61101.
48. Gilger M.A., Matson D.O., Conner M.E., Rosenblatt H.M., Finegold M.J., Estes M.K. Extraintestinal rotavirus infections in children with immunodeficiency // *J. Pediatr.* 1992. Vol. 120. N 6. P. 912–917.
49. Blutt S.E., Warfield K.L., Estes M.K., Conner M.E. Differential requirements for T cells in viruslike particle- and rotavirus-induced protective immunity // *J. Virol.* 2008. Vol. 82. N 6. P. 3135–3138.
50. McNeal M.M., VanCott J.L., Choi A.H., Basu M., Flint J.A., Stone S.C., Clements J.D., Ward R.L. CD4 T cells are the only lymphocytes needed to protect mice against rotavirus shedding after intranasal immunization with a chimeric VP6 protein and the adjuvant LT(R192G) // *J. Virol.* 2002. Vol. 76. N 2. P. 560–568.
51. McNeal M.M., Basu M., Bean J.A., Clements J.D., Choi A.H., Ward R.L. Identification of an immunodominant CD4+ T cell epitope in the VP6 protein of rotavirus following intranasal immunization of BALB/c mice // *Virology.* 2007. Vol. 363. N 2. P. 410–418.
52. Zhao W., Pahar B., Sestak K. Identification of rotavirus VP6-specific CD4+ T cell epitopes in a G1P[8] human rotavirus-infected rhesus macaque // *Virology (Auckl).* 2008. Vol. 1. P. 9–15.
53. Defo Z.K., Lee B. New approaches in oral rotavirus vaccines // *Crit. Rev. Microbiol.* 2016. Vol. 42. N 3. P. 495–505.
54. Jonesteller C.L., Burnett E., Yen C., Tate J.E., Parashar U.D. Effectiveness of Rotavirus Vaccination: A systematic review of the first decade of global post-licensure data, 2006–2016 // *Clin. Infect. Dis.* 2017. Vol. 65. N 5. P. 840–850.
55. Weintraub E.S., Baggs J., Duffy J., Vellozzi C., Belongia E.A., Irving S., Klein N.P., Glanz J.M., Jacobsen S.J., Naleway A., Jackson L.A., DeStefano F. Risk of intussusception after monovalent rotavirus vaccination // *N. Engl. J. Med.* 2014. Vol. 370. N 6. P. 513–519.
56. Carlin J.B., Macartney K.K., Lee K.J., Quinn H.E., Buttery J., Lopert R., Bines J., McIntyre P.B. Intussusception risk and disease prevention associated with rotavirus vaccines in Australia's national immunization program // *Clin. Infect. Dis.* 2013. Vol. 57. N 10. P. 1427–1434.
57. Haber P., Patel M., Pan Y., Baggs J., Haber M., Musero O., Yue X., Lewis P., Destefano F., Parashar U.D. Intussusception after rotavirus vaccines reported to US VAERS, 2006–2012 // *Pediatrics.* 2013. Vol. 131. N 6. P. 1042–1049.
58. Koch J., Harder T., von Kries R., Wichmann O. Risk of intussusception after rotavirus vaccination. A systematic literature review and meta-analysis // *Dtsch. Arztebl. Int.* 2017. Vol. 114. N 15. P. 255–262.
59. Simonsen L., Viboud C., Elixhauser A., Taylor R.J., Kapikian A.Z. More on Rota Shield and intussusception: the role of age at the time of vaccination // *J. Infect. Dis.* 2005. Vol. 192. Suppl. 1. P. S36–S43.
60. Boom J.A., Sahni L.C., Payne D.C., Gautam R., Lyde F., Mijatovic-Rustempasic S., Bowen M.D., Tate J.E., Rench M.A., Gentsch J.R., Parashar U.D., Baker C.J. Symptomatic infection and detection of vaccine and vaccine-reassortant rotavirus strains in 5 children: a case series // *J. Infect. Dis.* 2012. Vol. 206. N 8. P. 1275–1279.
61. Hemming M., Vesikari T. Vaccine-derived human-bovine double reassortant rotavirus in infants with acute gastroenteritis // *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2012. Vol. 31. N 9. P. 992–994.
62. Donato C.M., Ch'ng L.S., Boniface K.F., Crawford N.W., Buttery J.P., Lyon M., Bishop R.F., Kirkwood C.D. Identification of strains of RotaTeq rotavirus vaccine in infants with gastroenteritis following routine vaccination // *J. Infect. Dis.* 2012. Vol. 206. N 3. P. 377–383.
63. Victoria J.G., Wang C., Jones M.S., Jaing C., McLoughlin K., Gardner S, Delwart E.L. Viral nucleic acids in live-attenuated vaccines: detection of minority variants and an adventitious virus // *J. Virol.* 2010. Vol. 84. N 12. P. 6033–6040.
64. McClenahan S.D., Krause P.R., Uhlenhaut C. Molecular and infectivity studies of porcine circovirus in vaccines // *Vaccine.* 2011. Vol. 29. N 29–30. P. 4745–4753.
65. Patel M., Shane A.L., Parashar U.D., Jiang B., Gentsch J.R., Glass R.I. Oral rotavirus vaccines: how well will they work where they are needed most? // *J. Infect. Dis.* 2009. Vol. 200. Suppl. 1. P. S39–S48.
66. Glass R.I., Parashar U., Patel M., Gentsch J., Jiang B. Rotavirus vaccines: successes and challenges // *J. Infect.* 2014. Vol. 68. Suppl. 1. P. S9–S18.

67. Gentsch J.R., Laird A.R., Bielfelt B., Griffin D.D., Ban-yai K., Ramachandran M., Jain V., Cunliffe N.A., Nakagomi O., Kirkwood C.D., Fischer T.K., Parashar U.D., Bresee J.S., Jiang B., Glass R.I. Serotype diversity and reassortment between human and animal rotavirus strains: implications for rotavirus vaccine programs // *J. Infect. Dis.* 2005. Vol. 192. Suppl. 1. P. S146–S159.
68. Xie L., Yan M., Wang X., Ye J., Mi K., Yan S., Niu X., Li H., Sun M. Immunogenicity and efficacy in mice of an adenovirus-based bicistronic rotavirus vaccine expressing NSP4 and VP7 // *Virus Res.* 2015. Vol. 210. P. 298–307.
69. Girard A., Roques E., Massie B., Archambault D. Flagellin in fusion with human rotavirus structural proteins exerts an adjuvant effect when delivered with replicating but non-disseminating adenovectors through the intrarectal route // *Mol. Biotechnol.* 2014. Vol. 56. N 5. P. 394–407.
70. Perez C.A., Eichwald C., Burrone O., de Mendoza D. Rotavirus VP7 antigen produced by *Lactococcus lactis* induces neutralizing antibodies in mice // *J. Applied Microbiol.* 2005. Vol. 99. N 5. P. 1158–1164.
71. Marelli B., Perez A. R., Banchio C., de Mendoza D., Magni C. Oral immunization with live *Lactococcus lactis* expressing rotavirus VP8* subunit induces specific immune response in mice // *J. Virol. Methods.* 2011. Vol. 175. N 1. P. 28–37.
72. Li Y., Ma G., Li G., Qiao X., Ge J., Tang L., Liu M., Liu L. Oral vaccination with the porcine rotavirus VP4 outer capsid protein expressed by *Lactococcus lactis* induces specific antibody production // *J. Biomed. Biotechnol.* 2010. Vol. 2010. Article ID 708460.
73. Esteban L.E., Temprana C.F., Argüelles M. H., Glikmann G., Castello A.A. Antigenicity and immunogenicity of rotavirus VP6 protein expressed on the surface of *Lactococcus lactis* // *Biomed. Res. Int.* 2013. Vol. 2013. Article ID 298598.
74. Herrmann J.E., Chen S.C., Jones D.H., Tinsley-Bown A., Fynan E.F., Greenberg H.B., Farrar G.H. Immune responses and protection oral immunization with rotavirus obtained by VP4 and VP7 DNA vaccines encapsulated in microparticles // *Virology.* 1999. Vol. 259. N 1. P. 148–153.
75. Herrmann J.E., Chen S.C., Fynan E.F., Santoro J.C., Greenberg H.B., Robinson H.L. DNA vaccines against rotavirus infections // *Arch. Virol. Suppl.* 1996. Vol. 12. P. 207–215.
76. Herrmann J.E., Chen S.C., Fynan E.F., Santoro J.C., Greenberg H.B., Wang S., Robinson H.L. Protection against rotavirus infections by DNA vaccination // *J. Infect. Dis.* 1996. Vol. 174. Suppl. 1. P. S93–S97.
77. Chen S.C., Fynan E.F., Robinson H.L., Lu S., Greenberg H.B., Santoro J.C., Herrmann J.E. Protective immunity induced by rotavirus DNA vaccines // *Vaccine.* 1997. Vol. 15. N 8. P. 899–902.
78. Yang K., Wang S., Chang K.O., Lu S., Saif L.J., Greenberg H.B., Brinher J.P., Herrmann J.E. Immune responses and protection obtained with rotavirus VP6 DNA vaccines given by intramuscular injection // *Vaccine.* 2001. Vol. 19. N 23–24. P. 3285–3291.
79. Yuan I., Azevedo M.S., Gonzalez A.M., Jeong K.I., Van Nguyen T., Lewis P., Iasef C., Herrmann J.E., Saif L.J. Mucosal and systemic antibody responses and protection induced by a prime/boost rotavirus-DNA vaccine in a gnotobiotic pig model // *Vaccine.* 2005. Vol. 23. N 30. P. 3925–3936.
80. Chen S.C., Jones D.H., Fynan E.F., Farrar G.H., Clegg J.C., Greenberg H.B., Herrmann J.E. Protective immunity induced by oral immunization with a rotavirus DNA vaccine encapsulated in microparticles // *J. Virol.* 1998. Vol. 72. N 7. P. 5757–5761.
81. Chen S.C., Fynan E.F., Greenberg H.B., Herrmann J.E. Immunity obtained by gene-gun inoculation of a rotavirus DNA vaccine to the abdominal epidermis or ano-rectal epithelium // *Vaccine.* 1999. Vol. 17. N 23–24. P. 3171–3176.
82. Pèra F.F., Mutepfa D.L., Khan A.M., Els J.H., Mbe-wana S., van Dijk A.A., Rybicki E.P., Hitzeroth I.I. Engineering and expression of a human rotavirus candidate vaccine in *Nicotiana benthamiana* // *Virol. J.* 2015. Vol. 12. N 1: 205.
83. González S.A., Affranchino J.L. Assembly of double-layered virus-like particles in mammalian cells by coexpression of human rotavirus VP2 and VP6 // *J. Gen. Virol.* 1995. Vol. 76. N 9. P. 2357–2360.
84. Agnello D., Hervé C.A., Lavaux A., Darniot M., Guillon P., Charpilienne A., Pothier P. Intrarectal immunization with rotavirus 2/6 virus-like particles induces an antirotavirus immune response localized in the intestinal mucosa and protects against rotavirus infection in mice // *J. Virol.* 2006. Vol. 80. N 8. P. 3823–3832.
85. Bertolotti-Ciarlet A., Ciarlet M., Crawford S.E., Conner M.E., Estes M.K. Immunogenicity and protective efficacy of rotavirus 2/6-virus-like particles produced by a dual baculovirus expression vector and administered intramuscularly, intranasally, or orally to mice // *Vaccine.* 2003. Vol. 21. N 25–26. P. 3885–3900.
86. Crawford S.E., Estes M.K., Ciarlet M., Barone C., O'Neal C.M., Cohen J., Conner M.E. Heterotypic protection and induction of a broad heterotypic neutralization response by rotavirus-like particles // *J. Virol.* 1999. Vol. 73. N 6. P. 4813–4822.
87. Fromantin C., Jamot B., Cohen J., Piroth L., Pothier P., Kohli E. Rotavirus 2/6 virus-like particles administered intranasally in mice, with or without the mucosal adjuvants cholera toxin and *Escherichia coli* heat-labile toxin, induce a Th1/Th2-like immune response // *J. Virol.* 2001. Vol. 75. N 22. P. 11010–11016.
88. Istrate C., Hinkula J., Charpilienne A., Poncet D., Cohen J., Svensson L., Johansen K. Parenteral administration of RF 8-2/6/7 rotavirus-like particles in a one-doseregimen induce protective immunity in mice // *Vaccine.* 2008. Vol. 26. N 35. P. 4594–4601.
89. Lappalainen S., Tamminen K., Vesikari T., Blazevic V. Comparative immunogenicity in mice of rotavirus VP6 tubular structures and virus-like particles // *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013. Vol. 9. N 9. P. 1991–2001.
90. Azevedo M., Viasova A., Saif L. Human rotavirus virus-like particle vaccines evaluated in a neonatal gnotobiotic pig model of human rotavirus disease // *Expert Rev. Vaccines.* 2013. Vol. 12. N 2. P. 169–181.
91. El-Attar L., Oliver S.L., Mackie A., Charpilienne A., Poncet D., Cohen J., Bridger J.C. Comparison of the efficacy of rotavirus VLP vaccines to a live homologous rotavirus vaccine in a pig model of rotavirus disease // *Vaccine.* 2009. Vol. 27. N 24. P. 3201–3208.
92. Shuttleworth G., Eckery D.C., Awram P. Oral and intraperitoneal immunization with rotavirus 2/6 virus-like particles stimulates a systemic and mucosal immune response in mice // *Arch. Virol.* Vol. 150. N 2. P. 341–349.
93. Tan M., Huang P., Xia M., Fang P.A., Zhong W., McNeal M., Wei C., Jiang W., Jiang X. Norovirus P particle, a novel platform for vaccine development and antibody production // *J. Virol.* 2011. Vol. 85. N 2. P. 753–764.
94. Wang L., Xia M., Huang P., Fang H., Cao D., Meng X., McNeal M., Jiang X., Tan M. Branched-linear and agglomerate protein polymers as vaccine platforms // *Biomaterials.* 2014. Vol. 35. N 29. P. 8427–8438.
95. Tekewe A., Fan Y., Tan E., Middelberg A.P., Lua L.H. Integrated molecular and bioprocess engineering for bacterially produced immunogenic modular virus-like particle vac-

cine displaying 18 kDa rotavirus antigen // *Biotechnol. Bioeng.* 2017. Vol. 114. N 2. P. 397–406.

96. Choi A.H., McNeal M.M., Flint J.A., Basu M., Lycke N.Y., Clements J.D., Bean J.A., Davis H.L., McCluskie M.J., Van-Cott J.L., Ward R.L. The level of protection against rotavirus shedding in mice following immunization with a chimeric VP6 protein is dependent on the route and the coadministered adjuvant // *Vaccine.* 2007. Vol. 20. N 13–14. P. 1733–1740.

97. McNeal M.M., Basu M., Bean J.A., Clements J.D., Lycke N.Y., Ramne A., Löwenadler B., Choi A.H., Ward R.L. Intrarectal immunization of mice with VP6 and either LT(R192G), or СТА1-DD as adjuvant protects against fecal rotavirus shedding after EDIM challenge // *Vaccine.* 2002. Vol. 25. N 33. P. 6224–6231.

98. Духовлинов И.В., Богомолова Е.Г., Федорова Е.А., Симбирцев А.С. Исследование протективной активности кандидатной вакцины против ротавирусной инфекции

на основе рекомбинантного белка FLiCVP6VP8 // *Мед. иммунол.* 2016. Т. 18. № 5. С 417–424.

99. Fix A.D., Harro C., McNeal M., Dally L., Flores J., Robertson G., Boslego J.W., Cryz S. Safety and immunogenicity of a parenterally administered rotavirus VP8 subunit vaccine in healthy adults // *Vaccine.* 2015. Vol. 33. N 31. P. 3766–3772.

100. Groome M.J., Koen A., Fix A., Page N., Jose L., Madhi S.A., McNeal M., Dally L., Cho I., Power M., Flores J., Cryz S. Safety and immunogenicity of a parenteral P2-VP8-P[8] subunit rotavirus vaccine in toddlers and infants in South Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial // *Lancet Infect. Dis.* 2017. Vol. 17. N 8. P. 843–853.

Поступила в редакцию
17.07.2017 г.

Принята к печати
07.09.2017 г.

VIROLOGY

ROTAVIRUS VACCINES: NEW STRATEGIES AND APPROACHES

*O.A. Kondakova**, *N.A. Nikitin*, *E.A. Trifonova*, *J.G. Atabekov*, *O.V. Karpova*

*Department of Virology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia*

**e-mail: olgakond1@yandex.ru*

Rotavirus infection is a rotavirus-associated disease. It is the main cause of severe diarrhea among children all over the world and one of the factors influencing the infant mortality. Today, only live attenuated vaccines are widely used for vaccination against rotavirus infection. Existing vaccines have demonstrated their effectiveness, but they have a number of side effects, primarily the risk of intussusception. Complications associated with the use of existing vaccines are usually associated with oral administration of drugs and the replication of attenuated live vaccines in the human intestine. In this regard, there is a need to design modern, effective and safe vaccines against rotavirus infection, unable to reproduce (to replicate) in the human body. Currently, modern vaccines against rotavirus infection are being developed and tested actively. These are recombinant vaccines with parenteral administration. The complicated antigenic structure of rotavirus is one of the main problems for the design of such recombinant vaccines. This review discusses the genetic and antigenic diversity of rotavirus strains and the geographical location of their epidemically significant variants. The role of capsid proteins in the formation of an immune response to the virus and the current state of development of new candidate recombinant vaccines against rotavirus infection are considered.

Keywords: *rotavirus, vaccines, capsid protein, recombinant antigens, virus-like particles, adjuvant*

Сведения об авторах

Кондакова Ольга Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-53-67; e-mail: olgakond1@yandex.ru

Никитин Николай Александрович – канд. биол. наук, зав. сектором прикладной фитовирусологии кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-53-67; e-mail: nikitin@mail.bio.msu.ru

Трифорова Екатерина Алексеевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-53-67; e-mail: trifonova@mail.bio.msu.ru

Атабеков Иосиф Григорьевич – докт. биол. наук, академик РАН, гл. науч. сотр. кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-55-34; e-mail: atabekov@genebee.msu.ru

Карпова Ольга Вячеславовна – докт. биол. наук, проф. кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-53-67; e-mail: okar@genebee.msu.ru