

# ЦИТОКИНЫ И **Воспаление**

Cytokines & Inflammation

Том 8, №3, 2009

**TGF $\beta$**  и опухолевая иммуносупрессия

Цитокиновый профиль мочи при пиелонефрите у детей

**Гепарин и факторы роста**

Дисфункция поджелудочной железы при гестозе

Влияние пентоксифиллина  
на продукцию цитокинов при эндометриозе

Иммуноткорригирующие нейропептиды при инсульте

**ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ** в процессах воспаления



**Регуляция  
метаболических процессов IL-6**

## Иммунологические механизмы обеспечения терапевтического эффекта гриппозных векторов, экспрессирующих антиген ESAT-6, при экспериментальном туберкулезе у мышей

Н.В. Заболотных<sup>1</sup>, М.А. Стукова<sup>2</sup>, Т.И. Виноградова<sup>1</sup>, А.Ю. Егоров<sup>2</sup>, П.Г. Назаров<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии Росмедтехнологий»,

<sup>2</sup> ГУ «НИИ гриппа РАМН», <sup>3</sup> НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Изучали действие терапевтической вакцинации рекомбинантными гриппозными векторами, экспрессирующими микобактериальный антиген ESAT-6 (Flu/ESAT-6), на пролиферацию спленоцитов, продукцию спленоцитами IFN $\gamma$  и IL-2 и фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышей, инфицированных *M. tuberculosis Erdman*. Генерализованная туберкулезная инфекция у контрольных мышей сопровождалась ингибированием Th1-иммунного ответа. Показано, что двукратная иммунизация зараженных мышей вакциной Flu/ESAT-6, в сочетании с терапией противотуберкулезными препаратами, приводит к активации пролиферативной активности спленоцитов, повышению спонтанной продукции IFN $\gamma$  и ESAT-6-индуцированной продукции IL-2. Установлен стимулирующий эффект Flu/ESAT-6 на поглотительную и переваривающую функции перитонеальных макрофагов. Выявлено иммуноадьювантное действие PR8/NS1-125 вектора, не экспрессирующего ESAT-6 антиген, по активации фагоцитоза макрофагов. Сделан вывод, что реализация лечебного эффекта Flu/ESAT-6 осуществляется за счет стимуляции Th1-звена иммунитета, а также за счет иммуноадьювантных свойств самого гриппозного вектора. (Цитокины и воспаление. 2009. Т. 8, № 3. С. 27–32.)

**Ключевые слова:** туберкулез, терапевтическая вакцинация, Flu/ESAT-6, интерферон гамма, фагоцитоз.

Один из способов иммунотерапии туберкулезной инфекции – терапевтическая вакцинация показывает отсутствие эффекта и нередко ухудшение течения туберкулеза как при применении вакцины БЦЖ, так и при попытках использования других типов вакцинных кандидатов в большинстве доклинических исследований [2]. Позитивный лечебный результат получен только при использовании ДНК-вакцины на основе белка теплового шока микобактерий — Hsp65 [9].

В последнее время одним из наиболее перспективных специфических антигенов при конструировании новых противотуберкулезных вакцин считается ранний секреторный антиген микобактерий ESAT-6 (Early Secreted Antigen Target, 6 кДа), играющий роль одного из ведущих пусковых факторов, ответственных за раннюю продукцию ключевого фактора протективного иммунитета — интерферона  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) CD8-лимфоцитами, кото-

рые имеют специфические эпитопы для ESAT-6 [4]. Однако использование белка ESAT-6 в виде субъединичных или ДНК-вакцин выявило его недостаточную иммуногенность и необходимость многократной вакцинации с использованием адьювантов для формирования защитного эффекта [3].

В нашей работе в качестве векторов, несущих микобактериальный антиген ESAT-6, использовались рекомбинантные штаммы вируса гриппа с модифицированным геном NS1, в котором сохранена нуклеотидная последовательность, кодирующая первые 125 аминокислот белка NS1 вируса гриппа, а также добавлена последовательность, кодирующая микобактериальный белок ESAT-6. За счет нарушения основной функции полноразмерного белка NS1 как антагониста системы интерферона I типа полученные штаммы теряют способность к полноценной репликации в организме хозяина, что обеспечивает безопасность их использования в качестве вакцинных препаратов [13]. Введение подобных штаммов *in vivo* приводит к развитию

Заболотных Наталья Вячеславовна, e-mail: spbniif\_all@mail.ru

выраженного антиген-специфического Т-клеточного ответа к ESAT-6 антигену на системном уровне и поляризации иммунного ответа в сторону Th1 [12], что чрезвычайно важно для благоприятного течения и инволюции инфекции, поскольку ключевая роль в протективном характере иммунного ответа при инфицировании *M. tuberculosis* общепризнана именно за Th1-цитокином — IFN $\gamma$ . Профилактический и терапевтический эффекты Flu/ESAT-6 (гриппозного вектора, несущего микобактериальный антиген ESAT-6), при экспериментальном туберкулезе показаны нами ранее [1, 11].

Целью настоящей работы была оценка влияния терапевтической вакцинации гриппозными векторами, экспрессирующими микобактериальный антиген ESAT-6 (Flu/ESAT-6), на иммунный статус мышей при генерализованном туберкулезе.

### Материалы и методы

Рекомбинантный вирус гриппа подтипа H3N2 получен путем генетической реассортации вируса Flu/ESAT-6 (H1N1) с вирусом A/Aichi/1/68 (H3N2) на клетках Vero в присутствии кроличьей антисыворотки к вирусу A/PR/8/34 (H1N1). Клетки Vero (American Type Culture Collection (ATCC)) трансфицированы плазмидой, экспрессирующей химерную РНК NS-гена вируса гриппа, совместно с набором плазмид рTriEx-PB1, рTriEx-PB2, рTriEx-PA и рTriEx-NP, экспрессирующих белки полимеразного комплекса вируса гриппа (по 1 мкг каждой плазмиды). Трансфекцию проводили путем электропорации (Nucleofection technique, Атаха) в соответствии с инструкцией по использованию. 24 ч спустя трансфицированные клетки Vero были заражены желперными вирусами гриппа A/PR/8/delNS (H1N1) или A/Sing/delNS87 (H2N2), которые содержали частично или полностью удаленный NS-ген и вследствие этого были чувствительны к действию интерферона. В качестве селективного препарата добавляли человеческий лейкоцитарный интерферон альфа (NIBSC 1st International Standard 1999; 3 ЕД/мл культуральной среды). Конечная популяция вирусов содержала рекомбинантный NS-ген со вставкой ESAT-6, что подтверждалось секвенированием продукта ОТ-ПЦР.

Лечебный эффект иммунизации Flu/ESAT-6 исследовали на 140 мышах-самцах линии C57Bl/6 на модели генерализованного туберкулеза, вызванного введением в хвостовую латеральную вену культуры *M. tuberculosis Erdman* в дозе  $10^6$  КОЕ/мышь. Мышей иммунизировали на фоне обнаружения при контрольных вскрытиях множественных субмилиарных очагов специфического воспаления (через 2 недели после заражения) интраназально без наркоза в дозе  $10^6$  БОЕ/животное двукратно с перерывом в 3 недели. Контролем вакцинации Flu/ESAT-6 являлась двукратная иммунизация мышей гриппозными векторами, не содержащими ESAT-6 (PR8/NS1-125). Этиотропную терапию (изониазид 10 мг/кг + рифампицин 10 мг/кг, контроль лечения) начинали со дня первой иммунизации Flu/ESAT-6.

Пролиферацию спленоцитов мышей оценивали на 2-й, 5-й, 8-й и 14-й неделе после заражения в реакции бласттрансформации при индукции клеток фитогемагглютинином (ФГА, Sigma; 5,0 мкг/мл) и рекомбинантным белком ESAT-6 (Fusion Antibodies Ltd, Northern

Ireland; 5 мкг/мл) на жидкостном сцинтилляционном счетчике по количеству включенного 3H-тимидина. Продукцию IFN $\gamma$  и IL-2 в супернатантах нестимулированных и индуцированных ФГА (5 мкг/мл) и ESAT-6 (5 мкг/мл) культур спленоцитов определяли на 8 неделе после инфицирования с использованием иммуноферментных тест-систем Quantikine<sup>TM</sup> (R&D Systems, Minneapolis) и рассчитывали по калибровочной кривой зависимости оптической плотности от концентрации цитокина.

Фагоцитоз определяли на 8-й и 14-й неделе после заражения в культуре перитонеальных макрофагов (Мф,  $1 \times 10^6$  клеток), полученных из лаважа брюшной полости мышей, на пластиковых одноразовых чашках Петри (d=40 mm) в отношении клеточной взвеси дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae* ( $1 \times 10^7$  клеток), опсонизированных сывороткой мышей. Вычисляли: фагоцитарную активность Мф (ФА) — процент Мф, вовлеченных в фагоцитоз; фагоцитарное число (ФЧ) — среднее количество дрожжей, поглощенных одной фагоцитирующей клеткой; показатель завершенности фагоцитоза (ПЗФ) — количество дрожжей, переваренных макрофагами за 1,5 часа культивирования, и индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) — отношение ФЧ за 1 ч культивирования к ФЧ за 2,5 ч культивирования.

Статистическую обработку данных проводили с использованием параметрического теста Стьюдента и непараметрического критерия Вилкоксона — Манна — Уитни.

### Результаты и обсуждение

Терапевтическая вакцинация Flu/ESAT-6 начала через 2 недели после заражения одновременно с назначением противотуберкулезных препаратов (ПТП) на фоне распространения специфического поражения в легких инфицированных *M. tuberculosis Erdman* мышей (появление милиарных очагов  $d > 1$  мм).

Уже на этом раннем этапе развития экспериментального туберкулеза выявлена ингибция Th1-зависимого иммунного ответа: снижение спонтанной (до  $8707 \pm 82$  имп/мин у инфицированных мышей против  $10530 \pm 515$  имп/мин у интактных,  $p < 0,02$ ) и индуцированной ФГА (до  $11773 \pm 40$  против  $14756 \pm 190$  имп/мин, соответственно,  $p < 0,001$ ) пролиферации спленоцитов, а также продукции ими Th1-цитокинов — IFN $\gamma$  и IL-2 ( $p < 0,05$ ). Через 8 недель после заражения у инфицированных неслеченных мышей наблюдалось глубокое угнетение пролиферативного ответа как в нестимулированной культуре спленоцитов (в 3,85 раза,  $p < 0,001$ ), так и в ответ на ФГА (в 12,3 раза,  $p < 0,001$ , **рис. 1**). Параллельно, в супернатантах культур клеток селезенки зарегистрировано существенное угнетение спонтанной и ESAT-6-индуцированной продукции IFN $\gamma$  и IL-2 (**рис. 2**).

Ингибция Th1-спленоцитов при прогрессировании туберкулезной инфекции в настоящее время считается общепризнанным фактом. Существует гипотеза о взаимосвязи развивающегося при туберкулезе иммунопареза со сдвигами в обмене

глюкокортикоидов [10], однако большинство исследователей связывают подавление Th1-звена иммунной реакции на поздних сроках заболевания с превалированием Th2-ответа [15]. В то же время существует мнение, что Th2-ответ не определяет активность Th1-лимфоцитов, поскольку выключение IL-4, IL-4R, IL-13 и STAT6 не повышает чувствительность мышей к туберкулезу [8]. Отсутствие IL-5 и IL-10 также не влияет на течение туберкулеза у мышей [14].

Снижение бактериальной нагрузки в ходе инфекции под действием этиотропной терапии в нашем исследовании сопровождалось «реверсией» ингибированной функциональной активности спленоцитов, что проявилось стимуляцией продукции Th1-цитокинов через 6 недель терапии (см. **рис. 2**), а также частичным восстановлением спонтанной пролиферации спленоцитов и ответа клеток на поликлональный митоген ФГА через 12 недель от начала лечения ( $p < 0,05$ , см. **рис. 1**).

Наиболее существенные сдвиги в иммунологической реактивности обнаружены у мышей, двукратно иммунизированных Flu/ESAT-6 на фоне применения противотуберкулезных препаратов (ПТП).

При этом отмечен достоверный лечебный эффект Flu/ESAT-6, который проявился в уменьшении распространенности туберкулезного воспаления в легких, санации легочной ткани от *M. tuberculosis Erdman*, исчезновении альтернативного компонента в очагах специфического воспаления, а также в изменении клеточного состава гранулем в легких с преимущественно эпителиоидного на лимфоидный [1].

Уже через 3 недели после первого введения вакцины под влиянием Flu/ESAT-6 (в сочетании с ПТП) зарегистрировано усиление пролиферативной активности клеток селезенки, что выразилось в некотором (в 1,2 раза) повышении специфической пролиферации спленоцитов в ответ на ESAT-6 по индексу их стимуляции, вызванном, вероятно, формированием под действием Flu/ESAT-6 пула лимфоцитов, отвечающих на специфическую стимуляцию *in vitro* усилением митотической активности клеток.

Через 6 недель от начала терапии Flu/ESAT-6 различия с группой животных, получавших только этиотропное лечение, стали еще более отчетливыми (см. **рис. 1**). У мышей, иммунизированных рекомбинантными гриппозными векторами, экспрессирующими ESAT-6, отмечена

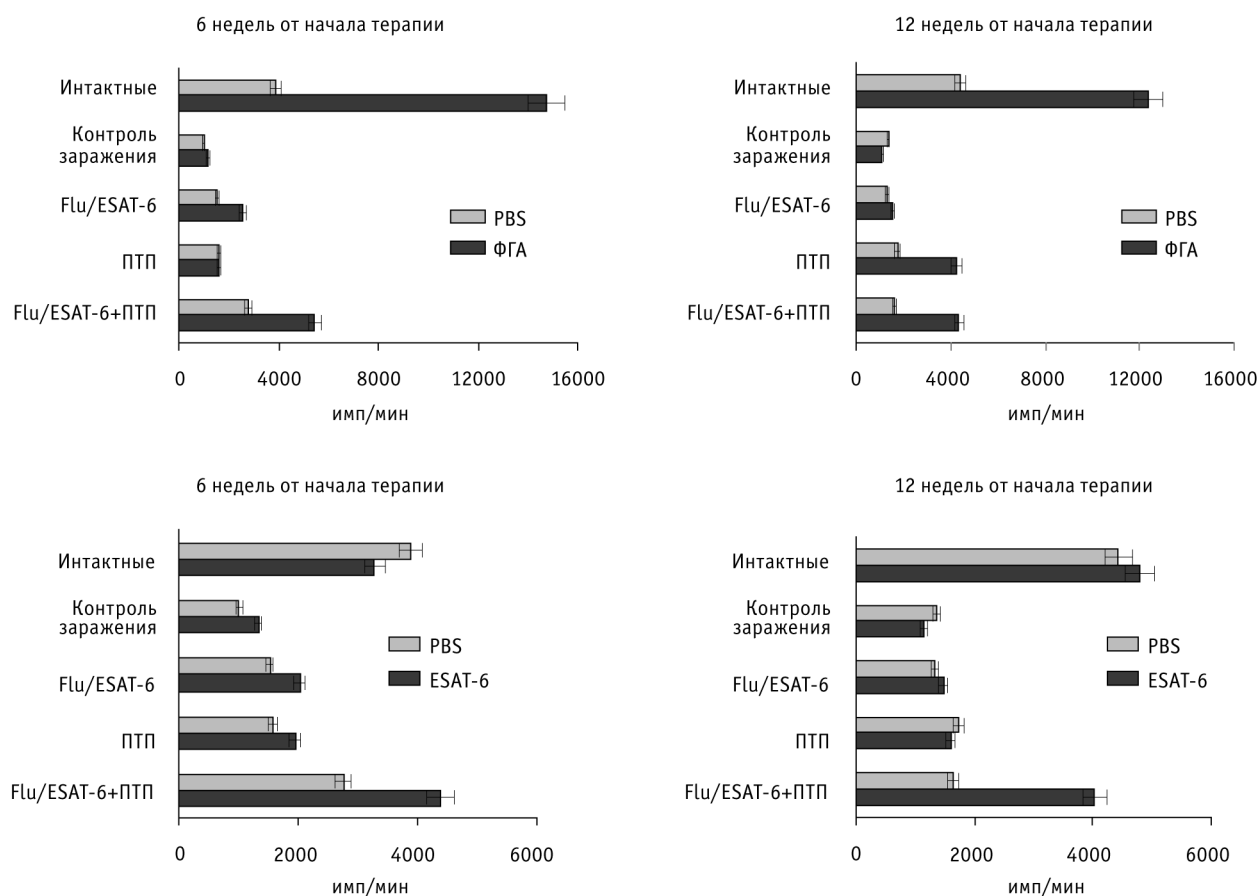


Рис. 1. Пролиферативная активность лимфоцитов селезенки мышей, зараженных *M. tuberculosis Erdman*, в ответ на стимуляцию стандартным (ФГА) или специфическим (ESAT-6) индукторами через 6 и 12 недель от начала терапии

По оси абсцисс — интенсивность включения 3H-тимидина в ДНК клеток (имп/мин) без стимуляции (PBS) и в ответ на стимуляцию фитогемагглютинином (ФГА) в конечной концентрации 5 мкг/мл или рекомбинантным белком ESAT-6 (5 мкг/мл). По оси ординат — группы животных. ПТП — противотуберкулезные препараты.

активация ФГА- и ESAT-6-индуцированного пролиферативного ответа спленоцитов (индексы стимуляции 2,66 и 2,46 соответственно), а также значимое (в 1,9 раза,  $p < 0,05$ ) повышение спонтанной секреции  $IFN\gamma$  и продукции IL-2 в ответ на ESAT-6 (см. **рис. 2**).

Иммунизация животных по аналогичной схеме гриппозным вектором PR8/NS1-125, не содержащим микобактериальный антиген ESAT-6, не привела к восстановлению показателей специфической пролиферативной активности спленоцитов, что исключает неспецифическое влияние на иммунный ответ самого гриппозного вектора.

Применение в монорежиме Flu/ESAT-6 при слабом лечебном эффекте (по данным летальности и гистологического исследования легких) практически не отразилось на пролиферативной активности лимфоцитов. В то же время даже этот режим использования Flu/ESAT-6 привел к повышению, при сравнении с нелечеными мышами, продукции  $IFN\gamma$  и IL-2 спленоцитами в ответ на ESAT-6 (данные не приводятся).

Проведенная в течение 12 недель терапия не оказала влияния на восстановление пролиферативной активности спленоцитов. Спонтанная пролиферация клеток селезенки и ответ на ФГА у мышей, получавших Flu/ESAT-6, а также в группе контроля лечения были на одном уровне за счет его частичного восстановления под влиянием ПТП. Однако по величине специфической пролиферации опытные группы животных различались существенно. У мышей, иммунизированных Flu/ESAT-6, ответ спленоцитов на ESAT-6 был в 2,5 раза выше ( $p < 0,001$ ), чем при лечении только ПТП (см. **рис. 1**). При этом индекс стимуляции у животных, леченных Flu/ESAT-6, стал выше показателя в интактной группе (2,46 против 1,98), поскольку спонтанная пролиферация даже у мышей, полу-

чавших иммунотерапию, оставалась на уровне 40% от уровня интактных.

Отмеченный стимулирующий эффект Flu/ESAT-6 на дифференцировку и функциональную активность Th1-спленоцитов помимо антиген-специфического ответа к ESAT-6 антигену, скорее всего, обусловлен и иммуногенностью рекомбинантных гриппозных векторов. Хотя в ходе гриппозной инфекции происходит активация как Th1-, так и Th2-иммунокомпетентных клеток [5], в случае гриппозных NS-мутантов Th1-ответ может доминировать вследствие того, что подобные вирусы индуцируют увеличенное количество интерферонов 1-го типа [6]. Это подтвердилось при формировании CD4 + Th1-ответа в результате двух последовательных иммунизаций интактных мышей Flu/ESAT-6 векторами, относящимися к различным (H3N2 и H1N1) подтипам вируса гриппа [11].

Анализ особенностей фагоцитоза перитонеальных Мф также выявил стимулирующий эффект Flu/ESAT-6. Он отмечен также через 6 недель от начала терапии, когда у зараженных нелеченных мышей на фоне распространенного туберкулезного поражения легочной ткани развивается достоверное угнетение как поглотительной, так и переваривающей способности Мф по всем изученным показателям (**рис. 3**). Эта ингибция сменяет, по литературным данным, на высоте развития инфекции первоначальную активацию фагоцитов на ранних стадиях туберкулеза [7], что, скорее всего, обусловлено переключением иммунного ответа при прогрессировании инфекции на Th2, а также влиянием поглощенных микобактерий туберкулеза. Кроме того, угнетению фагоцитоза при туберкулезе способствует и длительное применение противотуберкулезных препаратов, обладающих иммунодепрессивным компонентом действия, поскольку лечение больных туберкулезом требует

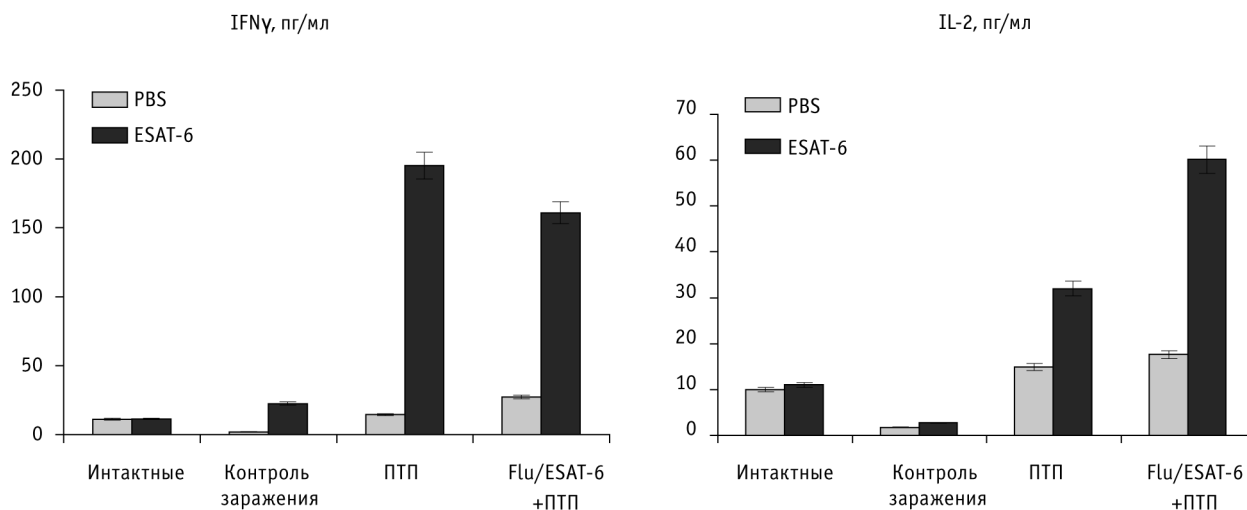


Рис. 2. Индуцированная ESAT-6 (5 мкг/мл) продукция  $IFN\gamma$  и IL-2 (пг/мл) спленоцитами мышей, зараженных *M. tuberculosis Erdman*, через 6 недель от начала терапии

проведения 6-месячных курсов этиотропной терапии.

Flu/ESAT-6 в оптимальной схеме уже через 6 недель после первой иммунизации полностью нормализовал поглотительную и переваривающую способность перитонеальных Мф, тогда как только этиотропная терапия на этом сроке не восстановила величину показателя завершенности фагоцитоза (157,0 против 217,67 дрожжевых клеток у интактных мышей).

Через 12 недель активность фагоцитоза перитонеальных Мф в группе контроля лечения практически полностью нормализовалась. При этом у мышей, иммунизированных Flu/ESAT-6 и контрольным вирусом PR8/NS1-125, наблюдалось повышение как поглотительной, так и переваривающей способности Мф. По сравнению с группой контроля лечения иммунизация гриппозными векторами достоверно усилила фагоцитарное число, фагоцитарную активность и показатель завершенности фагоцитоза ( $p < 0,05$ ). Причем при иммунизации PR8/NS1-125-вектором, не экспрессирующим ESAT-6-антиген, стимуляция фагоцитарной активности и показателя завершенности фагоцитоза даже несколько превышала эффект Flu/ESAT-6.

Таким образом, двукратная иммунизация мышей, зараженных *M. tuberculosis Erdman*, рекомбинантными гриппозными векторами, экспрессирующими микобактериальный антиген ESAT-6, при сочетанном применении с противотуберкулезными препаратами на фоне ингибиции Th1-иммунного ответа, развивающейся при туберкулезной инфекции, привела к существенному снижению тяжести ее те-

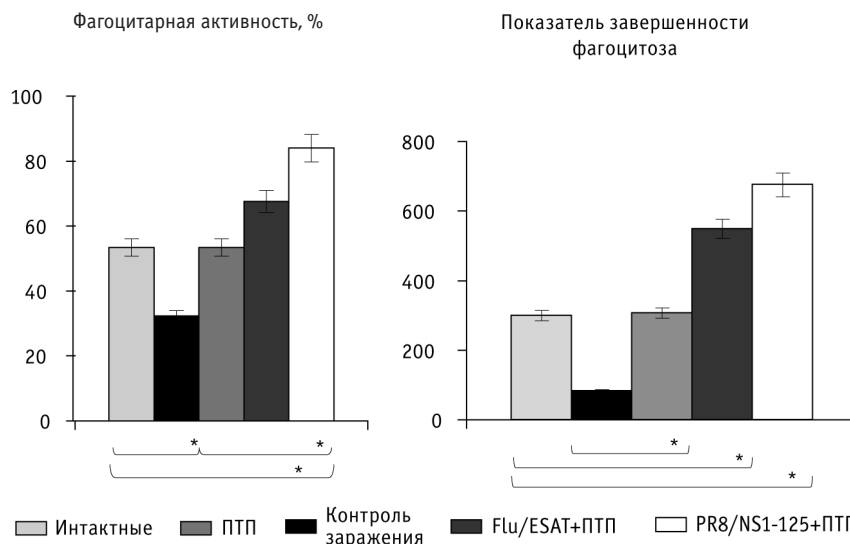


Рис. 3. Показатели активности фагоцитоза перитонеальных макрофагов у мышей, зараженных *M. tuberculosis Erdman*, через 12 недель от начала терапии

\* — достоверные отличия

чения. Оценка параметров клеточного иммунитета показала, что реализация лечебного эффекта Flu/ESAT-6, по-видимому, осуществляется за счет его стимулирующего действия на дифференцировку и функциональную активность Th1-звена иммунитета (спонтанной, а также индуцированной ФГА и ESAT-6 пролиферации спленоцитов, спонтанной продукции IFN $\gamma$  и продукции IL-2 на ESAT-6). Активация вакциной Flu/ESAT-6 Th1-иммунокомпетентных клеток обеспечила чрезвычайно важное для эффективной терапии туберкулеза выраженное и стойкое стимулирующее действие на поглотительную и переваривающую функции макрофагов, как известно, также существенно угнетенных в процессе развития туберкулеза. Активация показателей фагоцитоза при иммунизации зараженных животных вектором PR8/NS1-125, не экспрессирующим ESAT-6-антиген, свидетельствует об иммуноадъювантных свойствах самого гриппозного вектора.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Заболотных Н.В., Виноградова Т.И., Стукова М.А. и др. Терапевтическая эффективность гриппозных векторов, экспрессирующих протективный микобактериальный антиген ESAT-6, в комплексной терапии генерализованного туберкулеза у мышей // Пробл. туберк. бол. легких. — 2008. — № 12. — С. 30–34.
2. Aagaard C., Dietrich J., Doherty M., Andersen P. TB vaccines: current status and future perspectives // Immunol. Cell Biol. — 2009. — Vol. 87, № 4. — P. 279–86.
3. Brandt L., Elhay M., Rosenkrands I. et al. ESAT-6 subunit vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* // Infect. Immun. — 2000. — Vol. 68, № 2. — P. 791–795.
4. Brodin P., Rosenkrands I., Andersen P. et al. ESAT-6 proteins: protective antigens and virulence factors? // Trends Microbiol. — 2004. — Vol. 12, № 11. — P. 500–508.
5. Cox R.J., Brokstad K.A., Ogra P. Influenza virus: immunity and vaccination strategies. Comparison of the immune response to inactivated and live, attenuated influenza vaccines // Scand. J. Immunol. — 2004. — Vol. 59, № 1. — P. 1–15.
6. Ferko B., Stasakova J., Romanova J. et al. Immunogenicity and protection efficacy of replication-deficient influenza A viruses with altered NS1 genes // J. Virol. — 2004. — Vol. 78, № 23. — P. 13037–13045.
7. Hernandez-Pando R., Schon T., Orozco E.H. et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine during the evolution of experimental pulmonary tuberculosis // Exp. Toxicol. Pathol. — 2001. — Vol. 53, № 4. — P. 257–265.
8. Jung Y.J., LaCourse R., Ryan L. North R.J. Evidence inconsistent with a negative influence of T helper 2 cells on protection afforded by a dominant T helper 1 response against *Mycobacterium tuberculosis* lung infection in mice // Infect. Immun. — 2002. — Vol. 70, № 11. — P. 6436–6443.
9. Lowrie D.B., Tascon R.E., Bonato V.L. et al. Therapy of tuberculosis in mice by DNA vaccination // Nature. — 1999. — Vol. 400, № 6741. — P. 269–271.
10. Rook G., Baker R., Walker B. et al. Local regulation of glucocorticoid activity in sites of inflammation. Insights from the study of tuberculosis // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2000. — Vol. 917. — P. 913–922.
11. Sereinig S., Stukova M.A., Zabolotnyh N.V. et al. Influenza virus NS vectors expressing the mycobacterium tuberculosis ESAT-6 protein induce CD4+Th1 immune response and protect animals against tuberculosis challenge // Clin. Vaccine Immunol. — 2006. — Vol. 13, № 8. — P. 898–904.
12. Stasakova J., Ferko B., Kittel C. et al. Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1 $\beta$  and 18 // J. Gen. Virol. — 2005. — Vol. 86, pt. 1. — P. 185–195.
13. Talon J., Salvatore M., O'Neill R.E. et al. Influenza A and B viruses expressing altered NS1 proteins: a vaccine approach // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2000. — Vol. 97, № 8. — P. 4309–4314.

14. Turner J., Frank A.A., Brooks J.V. et al. The progression of chronic tuberculosis in the mouse does not require the participation of B lymphocytes or interleukin-4 // Exp. Gerontol. — 2001. — Vol. 36, № 3. — P. 537–545.

15. Vankayalapati R., Wize B., Weis S.E. et al. Serum cytokine concentrations do not parallel Mycobacterium tuberculosis-induced cytokine production in patients with tuberculosis // Clin. Infect. Dis. — 2003. — Vol. 36, № 1. — P. 24–28.

### **Immunological mechanisms ensuring therapeutic effect of influenzal vectors, which express ESAT6 antigen, in experimental tuberculosis in mice**

*N.V. Zabolotnyh<sup>1</sup>, M.A. Stukova<sup>2</sup>, T.I. Vinogradova<sup>1</sup>, A.J. Egorov<sup>2</sup>, P.G. Nazarov<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Federal State Institution «St. Petersburg Scientific Research Institute of Phthysiopulmonology»,

Federal Agency of High Technological Medical Care,

<sup>2</sup> Scientific Research Institute of Influenza, RAMS,

<sup>3</sup> Institute of Experimental Medicine, RAMS, St. Petersburg

**The aim: to study the effect of therapeutic vaccination in mice infected by M. tuberculosis Erdman with recombinant influenza vectors expressing mycobacterial antigen ESAT-6 (Flu/ESAT-6) on splenocyte proliferation and production of IFN $\gamma$  and IL-2, and phagocytic activity of peritoneal macrophages. The data showed that generalized tuberculosis infection in control mice was associated with inhibition of Th1 immune response. Double immunization of infected mice with Flu/ESAT-6, in combination with a standard anti-tuberculosis therapy, led to the activation of proliferative activity of splenocytes, increased production of IFN $\gamma$  and ESAT-6-induced production of IL-2. We demonstrate herein the stimulating effect of Flu/ESAT-6 on phagocytic and digestive activity of peritoneal macrophages. An adjuvant effect of vehicle PR8/NS1-125 vector, not expressing ESAT-6 antigen, was revealed on the basis of activation of phagocytic activity of macrophages. It is concluded that the therapeutic effect of Flu/ESAT-6 is realized due to Th1 immune responses stimulation, as well as through adjuvant properties of the influenza vector. (Cytokines and Inflammation. 2009. Vol. 8, № 3. P. 27–32.)**

**Key words:** tuberculosis, therapeutic vaccination, Flu/ESAT-6, interferon-gamma, phagocytosis.



## **МОО «ЧЕЛОВЕК И ЕГО ЗДОРОВЬЕ» ПЛАН КОНФЕРЕНЦИЙ И ВЫСТАВОК НА 2009 ГОД**

### **2-3 ноября**

VIII Конгресс Российского артроскопического общества

*Организаторы:* Министерство здравоохранения и социального развития РФ, Департамент здравоохранения г. Москвы, Центральный НИИ травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Российское Артроскопическое общество, МОО «Человек и его здоровье»

*Место проведения:* Москва, Академия Государственной службы

### **2-4 декабря**

III Международной молодежный конгресс Санкт-Петербургские научные чтения-2009

На базе государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова

*Организаторы:* Северо-Западное отделение РАМН, Комитет по науке и высшей школе Правительства Санкт-Петербурга, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, МОО «Человек и его здоровье»

*Место проведения:* Санкт-Петербург, Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

### **3-4 декабря**

Юбилейная конференция **Актуальные вопросы инфекционной патологии – 2009**,

посвященная 90-летию кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ВИЧ-медицины СПбГМУ им. академика И.П. Павлова

*Организаторы:* Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, МОО «Человек и его здоровье»

*Место проведения:* Санкт-Петербург, Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

### **10-11 декабря**

Юбилейная международная научно-практическая конференция **Фундаментальные и прикладные проблемы стоматологии**,

посвященная 50-летию стоматологического факультета имени академика И.П. Павлова

*Организаторы:* Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, МОО «Человек и его здоровье»

*Место проведения:* Санкт-Петербург, Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

В рамках конференций пройдут специализированные выставки

ПРИГЛАШАЕМ ФИРМЫ К УЧАСТИЮ!

[www.congress-ph.ru](http://www.congress-ph.ru) [ph@peterlink.ru](mailto:ph@peterlink.ru) 8 (812) 542 22 25 8 (812) 380 31 56  
Контактные лица: Ильина Наиля, Кольцова Ирина



Журнал  
**“ЦИТОКИНЫ И ВОСПАЛЕНИЕ”**

197376, Санкт-Петербург,  
 ул. Академика Павлова, 12  
 Тел.: (812) 234-1669, (812) 543-5214  
 e-mail: cytokines\_inflammation@yahoo.com  
 cytokines@yandex.ru

На сайтах журнала  
**www.cytokines.ru**  
**www.cytokines.uspb.ru:**

- Резюме статей за 2002-2009 гг.
- Полный текст любой статьи за 2002-2009 гг. (Pdf)
- Подборки статей за разные годы на компакт-дисках (pdf-формат)
- Книги по иммунологии
- Правила для авторов
- Подписка

