

Проблемы современной стратегии вакцинации против гепатита В

М.В. Коноплева¹ (konopleva@rambler.ru), В.Н. Борисова² (borisova@combiotech.com), Т.А. Семенов¹ (semenenko@gamaleya.org), М.А. Крымский², М.В. Соколова¹, А.П. Суслов¹

¹ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва

²ЗАО НПК «Комбиотех», г. Москва

Резюме

В условиях масштабной вакцинации против гепатита В во многих странах происходит накопление эскейп-мутантов вируса гепатита В (ВГВ), особенно среди вакцинированных детей. Реальная распространенность таких мутантов недооценена, а способность современных вакцин обеспечивать перекрестный иммунитет против мутанта G145R практически полностью отсутствует. Накапливается потенциал для распространения мутантных вирусных штаммов. В результате возникает вопрос о необходимости изменения дизайна вакцин с целью расширения спектра их действия. Подход к включению в вакцины эпитопов pre-S имеет свои преимущества в борьбе с эскейп-мутантами, однако, по мнению ряда исследователей, предпочтение следует отдать модифицированной α-детерминанте HBsAg, способной к выработке нейтрализующих антител, специфичных в отношении эскейп-мутантов. Модифицирование антигенных компонентов вакцин имеет определенные трудности, связанные с оценкой правильности фолдинга рекомбинантных белков и их соответствия природным аналогам. Недавно предложенный способ отбора рекомбинантных антигенов, обладающих необходимыми свойствами, вероятно, позволяет преодолеть существующие проблемы. Однако, по-видимому, вследствие видовой зависимости развития иммунного ответа на HBsAg, и ограничений использования модели шимпанзе для тестирования вакцин против гепатита В, окончательный ответ на этот вопрос может быть получен только после клинических исследований.

Ключевые слова: вирус гепатита В, вакцина, антиген, мутация, G145R, рекомбинантный и нативный HBsAg, иммунизация

Problems of the Current Vaccination Strategy against Hepatitis B

M.V. Konopleva¹ (konopleva@rambler.ru), V.N. Borisova² (borisova@combiotech.com), T.A. Semenenko¹ (semenenko@gamaleya.org), M.A. Krymskij², M.V. Sokolova¹, A.P. Suslov¹

¹Federal State Budget Institution «N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of Ministry of Healthcare, Moscow

²Closed Joint-Stock Company Research and Production Company «Combiotech», Moscow

Abstract

Accumulation of escape mutants of hepatitis B virus (HBV) occur in the many countries at the conditions of wide-scale vaccination against hepatitis B, especially among vaccinated children. The real prevalence of such mutants is underestimated and the capacity of current vaccines to provide cross-immunity against G145R mutant is almost completely absent. The potential for spread of mutant virus strains accumulates. Consequently, a question about the need to change the design of vaccines arises with the purpose of expansion of their action spectrum. An approach of inclusion pre-S epitopes into vaccines has own advantages in fight with escape mutants, but some researchers suggest that the inclusion of modified α-determinant capable to induce neutralizing antibodies specific to escape mutants into vaccine composition is more preferable. Nevertheless, modification of antigen components of vaccines has certain difficulties related to evaluation of the accuracy of folding of recombinant proteins and their conformity to natural analogues. A recently proposed method for selecting of recombinant antigens possessing the necessary properties likely allows to overcome existing problems. However, apparently, due to the features of species immunity to HBsAg and the limitations of using the chimpanzee model for testing of hepatitis B vaccines, the final answer to this question can only be obtained after clinical studies.

Key words: hepatitis B virus, HBV, vaccine, antigen, mutation, G145R, S143L, ВГВ, recombinant and native HBsAg, immunization

Одной из важных причин распространения вируса гепатита В (ВГВ) в условиях широкомасштабной вакцинации является возникновение мутаций «ускользания» (эскейп-мутаций) в S-гене, в области, соответствующей α-детерминанте HBsAg [1]. Вариант ВГВ с мутацией

G145R является наиболее распространенным и значимым [1, 2]. Он был обнаружен при исследованиях во многих странах, в том числе и в России [2 – 5]. Выявлено 3 кластера мутаций (40-45, 114-122 и 198-208 а.о.), часто встречающихся в совокупности с заменой G145R [6]. Большую

клиническую значимость имеют также мутанты P120T, T131I и замены в позициях 123, 124, 126, 129, 133, 141, 143, 144 [7, 8], а инсерция 3-х дополнительных аминокислотных остатков в области 122-124 а.о. часто вызывает фульминантную реактивацию ранее серонегативного по HBsAg гепатита В [8].

Данные, представленные в литературе, указывают на возрастающее накопление HBsAg-мутантов у вакцинированных детей [9]. Например, в Сингапуре у 12% новорожденных, родившихся от HBsAg/HBeAg-позитивных матерей, несмотря на присутствие анти-HBs, индуцированных плазменной вакциной и введением специфического иммуноглобулина, не удалось предотвратить инфицирование ВГВ. У большинства вирусных изолятов, выделенных из крови заболевших, была выявлена мутация G145R [10]. Аналогичные исследования в США при обследовании детей, рожденных ВГВ-носительницами, показали, что, несмотря на пассивно-активную иммунизацию, у 23% инфицированных детей была обнаружена замена одной или более аминокислот а-детерминанты, чаще всего в 142-145 а.о. [2].

На Тайване в результате массовой вакцинации детей против гепатита В был зафиксирован рост числа инфекций, обусловленных эскейп-мутациями: распространенность мутантов а-детерминанты у детей HBsAg-носителей в 1984 году составляла 7,8%, она существенно увеличилась в 1989 году (до 19,6%), достигла пика (около 28,1%) в 1994 и осталась примерно на уровне 23,1% в 1999 году [9]. Хотя в целом через 10 – 15 лет после начала вакцинации количество инфицированных мутантами детей снизилось, распространенность HBsAg-мутантов была достоверно выше у детей, которые прошли полный курс вакцинации, нежели у невакцинированных. У вакцинированных детей мутации аминокислотных остатков происходили чаще в регионе 140-149 а.о. S-HBsAg, доминировала мутация G145R [9]. При этом большее количество мутаций в а-детерминанте появлялось у детей, прошедших полный курс вакцинации плазменной вакциной, чем у детей, иммунизированных рекомбинантной вакциной [9]. На Тайване массовая вакцинация привела к сокращению случаев острого и хронического гепатита В, а также гепатоцеллюлярной карциномы среди вакцинированных детей и снижения показателей серопозитивности по HBsAg с 10 – 17% у тех, кто родился до начала программы вакцинации, до 0,5 – 1,7% в настоящее время, [4]. При этом у детей с острой или фульминантной формой гепатита В мутации в S-гене выявляются как доминирующий или единственный вариант ВГВ. Среди вакцинированных лиц, инфицированных ВГВ, по-прежнему преобладают мутанты G145R и T126A/S, частота которых достигла 48% от всех детектированных мутантов [4].

Клиническая значимость эскейп-мутантов изучается, показана их стабильность в течение

по меньшей мере 13 лет, при этом мутанты M133T и G145R обнаруживались при гепатоцеллюлярной карциноме [11].

В Китае сравнивалась распространенность в 1992 и 2005 годах мутантов белка L-HBsAg в условиях общенациональной программы вакцинации в группах детей и взрослых. Результаты сравнения показали, что распространенность мутантов а-детерминанты у детей возросла с 6,5 (1992 г.) до 14,8% (2005 г.), наиболее часто обнаруживался мутант G145R. В отличие от детей у взрослых частота выявления мутаций изменилась незначительно с 9,4 (1992 г.) до 9,9% (2005 г.). Более того, в детской группе специфично возросла именно частота мутаций S-HBsAg, мутационная частота в pre-S области не показала существенных различий. Однако во взрослой группе частота мутаций увеличилась и в pre-S, и в S-областях генома. К тому же частоты клинически важных делеций pre-S2 области были значительно выше во взрослой группе, по сравнению с детской в оба периода исследований. Таким образом, было показано не только то, что массовая иммунизация повышает уровень мутаций S-белка, но и то, что распространенность клинически важных мутаций L-HBsAg имеет тенденцию увеличиваться с возрастом пациента [12].

Хотя подобные исследования на территории Российской Федерации еще не проводились, факт циркуляции мутанта G145R фиксировался неоднократно [5, 13, 14]. Оценка распространенности мутаций а-детерминанты среди хронических носителей ВГВ с высокой концентрацией HBsAg, впервые выявленная в 2007 году, показала, что частота всех серологических атипичных вариантов составляла 0,76%, при этом мутация G145R обнаруживалась с частотой 0,12%, S143L/T143M – 0,24% [5]. В 2016 году эскейп-мутанты выявляли у 9% пациентов с гемобластозами [13].

Все вышеперечисленные факты поднимают вопрос о способности вакцин, применяемых в настоящее время, контролировать инфекцию, вызванную ВГВ, особенно в условиях распространяющихся эскейп-мутаций. С одной стороны, тайваньский опыт показал, что благодаря значимому уменьшению общего количества HBsAg-носителей, итоговая распространенность мутантов S-гена в вакцинированной популяции в целом не увеличилась [4]. Был сделан вывод, что хотя мутации а-детерминанты обнаруживаются преимущественно при заражении иммунизированных детей, они не представляют угрозы для действующей на Тайване стратегии вакцинации [9]. Было высказано мнение, что при условии недостаточного доказательства широкого распространения мутантов S-гена они не нуждаются во включении их в состав вакцин против гепатита В и требуются дальнейшие исследования для того, чтобы выработать лучшие стратегии в целях предотвращения всплеска ВГВ-инфекции, вызванной вирусом как дикого типа, так и мутантов ВГВ [4]. С другой стороны, низкая

распространенность мутаций ВГВ не служит доказательством высокой кросс-реактивности вакцины или низкой инфекционности мутантного варианта ВГВ, но может быть проявлением эпидемиологии ВГВ [15].

Принцип предотвращения появления мутантов лекарственной устойчивости при использовании большого спектра лекарств в полной мере применим и к вакцинам, поэтому создание вакцины широкого действия может только приветствоваться [15]. Поэтому ряд исследователей призывает поощрять разработку вакцин со сниженным риском селекции мутантных вариантов ВГВ. Для определения требуются ли модификации вакцин против возможных вирусных вариантов необходима оценка эффективности применяемых вакцин [11, 15].

Динамика проявлений эпидемического процесса гепатита В на различных территориях зависит от социальных, экономических, биологических, демографических факторов и поведенческих стереотипов населения. Их совокупность влияет на формирование и масштабы группы риска, на доминирование тех или иных путей передачи ВГВ и их интенсивность [16]. Wilson J.N. и соавт. в 1998 – 1999 годах разработали эпидемиологическую модель ВГВ (апробировали в Гамбии), чтобы исследовать возможные схемы появления вакциноустойчивого штамма вируса. При пессимистичных предположениях, например, что действующая вакцина не обеспечивает перекрестного иммунитета против мутантного штамма, а мутант обладает инфекционностью, сравнимой с вирусом дикого типа, модель предсказывает, что успешная вакцинация может привести к тому, что ВГВ дикого типа исчезнет через 200 лет, а мутант G145R не будет доминировать над вирусом дикого типа по крайней мере в течение 50 лет, но станет повсеместно распространяться через 60 – 100 лет [15, 17], то есть примерно к 2060 году. Точные временные параметры, предсказываемые моделью Wilson, зависят от первоначального количества индивидуумов, инфицированных мутантным штаммом ВГВ. В 1999 году варианты, ассоциированные с вакцинным ускользанием в Гамбии выявлялись у >10% вирусоносителей [15].

В 2013 году российскими учеными также была разработана математическая модель распространения мутантного G145R варианта ВГВ в условиях вакцинации, основанной на использовании HBsAg дикого типа, рассчитанная для Российской Федерации. Согласно российской модели, сейчас происходит «накопление потенциала» для распространения HBsAg-мутантных вариантов ВГВ на территории России: показатель заболеваемости острым гепатитом В, вызванный мутантными вариантами, может находиться на низком уровне и иметь незначительный рост на протяжении 40 – 50 лет, после чего возможен выраженный подъем и пик заболеваемости после 2060 года [18]. Применение данной модели для исследований распространения

эскейп-мутантов на территориях 7 федеральных округов РФ показало, что при достигнутом к настоящему времени масштабе вакцинации против гепатита В и при сохранении существующих тенденций, схожести факторов и условий, влияющих на распространение ВГВ, существует риск распространения мутантных вариантов вакцинального бегства ВГВ, который может привести к изменениям динамики и тенденций проявления эпидемического процесса гепатита В на территории всей страны [16].

В обеих моделях ставится условие отсутствие перекрестной защиты против мутантных форм ВГВ при использовании стандартной вакцинации. Ряд исследований показывает, что перекрестная защита, обеспечиваемая действующими вакцинами, действительно невелика. Так, изучение взаимодействия анти-HBs из сывороток крови переболевших или вакцинированных людей с мутантным G145R антигеном выявило, что связывание анти-HBs с HBsAg дикого типа полностью ингибировалось рекомбинантными *au* и *ad*. Напротив, при использовании мутантного G145R HBsAg в сыворотке вакцинированных лиц ингибирование не наблюдалось, а в сыворотке переболевших пациентов оно было незначительным [19]. Оценка эффективности вакцин, используемых на территории РФ, также показала отсутствие перекрестной защиты против мутанта G145R. Вакцинация людей препаратами, содержащими HBsAg дикого типа с одинаковой эффективностью индуцировала образование антител как к HBsAg дикого типа, так и к мутанту S143L, но практически не вызывала образования антител к HBsAg, несущему мутацию G145R. В то же время, в сыворотке людей, переболевших гепатитом В, обнаруживаются антитела, кросс-реагирующие с мутантом G145R, то есть в принципе образование антител, реагирующих с мутантным G145R HBsAg, возможно [20, 21].

При этом следует учитывать, что реальное количество циркулирующих эскейп-мутантов, например в России, намного больше, чем принято считать на основе текущих эпидемиологических данных, особенно в группах риска. Так, с помощью высокопроизводительного секвенатора PGM Torrent методом NGS было исследовано 27 изолятов вируса гепатита В, полученных от хронических HBsAg-носителей, а также от больных с сочетанием хронического носительства HBsAg и заболевания крови. Анализ первичной структуры S-HBsAg позволил выявить 12 видов мутаций иммунологического ускользания: P120T, T125N, T126I/N/K, Q129H/R, T131N, M133T, S143L/T, D144E, G145R. В целом, в 27 изолятах было обнаружено 19 (70%) различных эскейп-мутантов ВГВ. При этом частота выявления эскейп-мутаций у гематологических пациентов составила 89%, тогда как у пациентов с хроническим гепатитом В – только 11%. Однако выявленные эскейп-мутации в образцах обладали не 100% гомогенностью, их содержание варьировало

от 21 до 100%. Благодаря высокочувствительному методу NGS удалось выявить минорные примеси эскейп-мутантов в образцах с вирусом дикого типа, которые невозможно было определить простым капиллярным секвенированием [14]. В Японии в 2016 году с помощью NGS было проведено исследование с целью прояснить, могут ли происходить неудачи при иммунопрофилактике гепатита В у детей, рожденных от матерей-носительниц ВГВ с мутантным штаммом G145R, существующим в качестве минорной популяции. Было показано, что мутант G145R детектировался у хронически инфицированных детей с гепатитом В, несмотря на иммунопрофилактику, не только как главный, но и как минорный штамм, его частота варьировала от 0,54 до 6,58% [22].

Таким образом, недооцененность распространения эскейп-мутантов при недостаточной перекрестной защите существующих вакцин и нарастающей проблеме накопления мутантных штаммов среди вакцинированных детей свидетельствуют о том, что разработка рекомбинантных вакцин нового поколения, обеспечивающих индукцию протективного иммунитета как против дикого типа, так и против HBsAg-мутантных вариантов ВГВ, является совершенно необходимой для предупреждения их распространения. Исследования в этом направлении уже проводятся, и при этом существует две основные стратегии. Одна из них заключается во включении в действующие вакцины эпитопов pre-S. В Японии, например, в этом направлении были достигнуты определенные успехи. В частности, описывается следующий клинический случай. Мальчик, рожденный от ВГВ-инфицированной матери, получил иммуноглобулин против гепатита В и обычную рекомбинантную вакцину по общепринятому протоколу, но активной продукции анти-HBs не произошло. Дополнительное введение обычной рекомбинантной вакцины, в 9 и 12 месяцев также не привело к выработке антител, несмотря на двукратное увеличение дозы. Затем мальчик в 14, 15 и 19 месяцы жизни получил инъекции pre-S2-содержащей вакцины, после чего быстро развилась сероконверсия анти-HBs. Ретроспективный анализ сывороток ребенка выявил, что тест на ДНК ВГВ был неоднократно положительным в течение всего периода, пока тест на анти-HBs оставался негативным (месяцы 6 – 15). Генетический анализ ДНК ВГВ от матери и ее ребенка показал, что материнская ДНК ВГВ являлась смесью субтипов *adv* и *adr* вируса, в то время как ДНК ВГВ ребенка содержала только субтип *adr*. Кроме того, в отличие от матери, 127 кодон в S-гене ВГВ ребенка кодировал Thr вместо Pro, типичного для дикого типа ВГВ субтипа *adr*. Таким образом, в данном случае мутант P127T, ускользнувший от обычной вакцины, содержащей последовательность S-HBsAg, не смог избавиться от pre-S2 индуцированного иммунного ответа, и в итоге pre-S2-содержащая вакцина сработала в качестве терапевтического препарата [23].

Тем не менее, некоторые исследователи выражают сомнения, что включение эпитопов pre-S способно повысить эффективность вакцин против эскейп-вариантов ВГВ, поскольку требуется вакцина, содержащая специфические эпитопы, индуцирующие нейтрализующие антитела против наиболее широко распространенных вариантов ВГВ [15]. Попытки разработать вакцину, защищающую от мутанта G145R, предпринимались неоднократно [24 – 26], однако до сих пор они не были реализованы. Одним из возможных препятствий для этого могла быть сложность определения правильности фолдинга рекомбинантного белка и степени его соответствия мутанту G145R, встречающемуся в природных условиях. Возможно также это обусловлено несколько иным механизмом развития иммунного ответа на мутант G145R, по сравнению с HBsAg дикого типа [27, 28].

Суть данной проблемы состоит в том, что аминокислотные замены внутри а-детерминанты приводят к конформационным изменениям и в различной степени влияют на антигенность и иммуногенность белковой молекулы. Например, замена G145R приводит к столь радикальным изменениям, что HBsAg-специфичные протективные антитела практически полностью теряют способность связываться с мутантным вариантом HBsAg [7, 19, 29, 30]. Более того, классический тест двойной иммунодиффузии с моноклональными HBsAg антителами с HBsAg дикого типа и HBsAg, модифицированным мутацией G145R, определяет мутант G145R как другой антиген, совершенно неидентичный HBsAg дикого типа [27, 31]. По данным компьютерного моделирования, замена G145R вызывает значимое уменьшение иммуногенной активности HBsAg за счет конформационного изменения антигенных петель в его молекуле. Эта мутация вставляет новую β -складку в район а-детерминанты HBsAg и изменяет ориентацию трансмембранных сегментов, что влияет на локализацию мутантного HBsAg в липидном слое [32]. Вероятно, в результате этого замена G145R влияет даже на морфогенез ВГВ. Так, с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (методами негативного контраста и непрямой реакции иммунопомеченения) в сыворотке хронического носителя HBsAg, содержащей вирус с мутацией G145R, была установлена большая гетерогенность морфологических форм ВГВ и наличие необычных для ВГВ крупных структур овальной формы. В сыворотках крови, содержащих вирус с другой эскейп-мутацией S143L, а также ВГВ дикого типа, подобные частицы не обнаруживались [33].

Однако такие значительные структурные изменения не полностью нарушают иммуногенность HBsAg [19, 34]. Иммунный ответ против G145R имеет свои особенности и, вероятно, наблюдается видовая зависимость. Исследование гуморального ответа у мышей Balb/c после иммунизации антигенами вируса, относящихся к субтипам

au и *ad* дикого или мутантного G145R *au* типа показало, что варианты HBsAg существенно различаются по иммуногенности и специфичности детерминант [19]. У мышей, иммунизированных антигенами дикого типа, анти-HBs-ответ был более чем в 100 раз выше, чем иммунный ответ, развившийся в случае мутантного антигена G145R после второй иммунизации. При иммунизации субтипом *au* получалось в четыре раза больше анти-*au*, чем анти-G145R. Напротив, иммунизация мутантным антигеном вызывала почти в пять раз больше антител, распознающих этот мутантный антиген, чем антител к *au* дикого типа [19]. С помощью генетической иммунизации также было показано, что мутантный HBsAg G145R (субтипа *adw2*) вызывал нормальный ЦТЛ-ответ у мышей Balb/cJ (H-2d) по отношению к эпитопу, соответствующему 29-38 а.о. HBsAg, и индуцировал у мышей образование специфичных антител [34]. В то же время конформационное изменение, вызванное заменой G145R, не просто приводило к снижению иммуногенности, но и создавало новую специфичность. У мутантного HBsAg G145R лишь частично сохранялась способность индуцировать антитела к дикому типу HBsAg. Одно из полученных моноклональных антител показало кросс-реактивность по отношению к HBsAg дикого и мутантного типа G145R [34].

Инфицирование шимпанзе изолятом вируса, несущим мутацию G145R, также приводит к индукции анти-HBs [35], однако, по всей видимости, у данной животной модели есть свои особенности. Оценка защитной эффективности лицензированных вакцин против гепатита В при внутривенном заражении предварительно вакцинированных шимпанзе мутантом G145R, показала, что у всех вакцинированных шимпанзе в отличие от невакцинированных не было обнаружено никаких признаков ВГВ-инфекции или гепатита в течение 2 лет после заражения вирусом. Сывороточные анти-HBs у вакцинированных шимпанзе реагировали в конкурентном ИФА не только с поверхностным антигеном дикого типа, но также и мутантным HBsAg. Таким образом, иммунизация шимпанзе лицензированными рекомбинантными вакцинами против гепатита В стимулировала образование анти-HBs, обладающих широкой реакционной способностью и обеспечивающих защиту против инфекции, вызванной мутантом G145R. На этом основании авторы предположили, что должным образом иммунизированные люди будут не столь подвержены риску инфицирования этим штаммом ВГВ [36]. Однако позже было показано, что у шимпанзе мутант G145R может быть нестабилен, так как он ревертирует в дикий тип во время виремии. В отличие от мутанта G145R вариант ВГВ с тремя мутациями в гене полимеразы (rtV173L+rtL180M+rtM204V) был стабилен и дополнительные исследования эффективности вакцин против гепатита В, проведенные на шимпанзе, показали отсутствие стерилизующего иммунитета против полимеразного мутанта [37].

Несмотря на сложности, в разработке вакцин, способных обеспечить перекрестную защиту против эскейп-мутантов ВГВ, в частности против наиболее широко распространенного и значимого мутанта G145R, в последнее время наметились положительные тенденции. Для отбора антигенных вариантов, наиболее полноценно воспроизводящих свойства природного мутанта G145R, был предложен метод серологического портретирования [5, 28, 31]. В результате было обнаружено, что не все рекомбинантные варианты HBsAg с заменой G145R, экспрессированные в различных генетических системах при разных технологических условиях, обладают такими же антигенными свойствами, как природный HBsAg с аналогичной мутацией [28, 38]. Кроме того, при получении рекомбинантного HBsAg с мутацией G145R условия его экспрессии и очистки играют не менее важную роль, чем замена нуклеотидов в целевом кодоне, от них зависит правильный фолдинг мутантного антигена [27, 28].

Иммуногенные свойства рекомбинантного HBsAg с точечной мутацией G145R, являющегося наиболее близким аналогом природному мутанту, оценили по развитию гуморального ответа у мышей и овец с помощью специфичных тест-систем [39]. На мышах Balb/c было показано, что иммуногенные свойства G145R-мутанта отличаются от HBsAg дикого типа по уровню ответа и специфичности антител. Для развития гуморального ответа против рекомбинантного G145R-мутанта требовалось увеличение дозы антигена, по сравнению с антигеном дикого типа и, возможно, подбор другого адъюванта [27, 28]. Обнаружено, что отобранный по принципу антигенного сходства рекомбинантный мутантный HBsAg обладал иммуногенностью не только у мышей, но и у овец, причем результаты были аналогичны мышинной модели. Индуцированные иммунизацией антитела обладали преимущественной специфичностью к HBsAg мутантного типа, слабо реагируя с HBsAg дикого типа. Кроме того, было установлено, что мутантный антиген, по сравнению с диким типом, требует больших доз и времени на развитие иммунного ответа, однако он способен вызывать образование антител на уровне, сопоставимым с антигеном дикого типа [28].

Таким образом, отобранный по антигенным и иммуногенным свойствам рекомбинантный мутантный антиген G145R, со свойствами нативного HBsAg с той же мутацией, может потенциально служить компонентом вакцины против гепатита В, в том числе и поливалентной. ■

ORCID

M.B. Коноплева 0000-0002-9724-695X

B.H. Борисова 0000-0001-7571-150X

T.A. Семенов 0000-0002-6686-9011

M.A. Крымский 0000-0003-4603-7354

M.B. Соколова 0000-0002-2836-8232

A.P. Сулов 0000-0001-5731-3284

Литература

- Zuckerman A.J. Effect of hepatitis B virus mutants on efficacy of vaccination. *Lancet*. 2000; 355 (9213): 1382 – 1384.
- Fran ois G., Kew M., Van Damme P., Mphahlele M.J., Meheus A. Mutant hepatitis B viruses: a matter of academic interest only or a problem with far-reaching implications? *Vaccine*. 2001; 19 (28 – 29): 3799 – 3815.
- Carman W.F., Zanetti A.R., Karayiannis P., Waters J., Manzillo G., Tanzi E. et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet*. 1990; 366 (8711): 325 – 329.
- Chang M.H. Breakthrough HBV infection in vaccinated children in Taiwan: surveillance for HBV mutants. *Antivir. Ther.* 2010; 15 (3 Pt. B): 463 – 469.
- Баженов А.И., Коноплева М.В., Эльгорт Д.А., Фельдшерова А.А., Хац Ю.С., Годков М.А. и др. Алгоритм серологического поиска и оценка распространенности серологически значимых HBsAg-мутаций у хронических носителей вируса гепатита В. *ЖМЭИ*. 2007; 6: 30 – 37.
- Kalinina T., Riu A., Fischer L., Will H., Sterneck M. A dominant hepatitis B virus population defective in virus secretion because of several S gene mutations from patient with fulminant hepatitis. *Hepatology*. 2001; 34 (2): 385 – 394.
- Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J. Clin. Virol.* 2005; 32: 102 – 112.
- Carman W.F., Trautwein C., van Deursen F.J., Colman K., Dornan E., McIntyre G. et al. Hepatitis B virus envelope variation after transplantation with and without hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology*. 1996; 24 (3): 489 – 493.
- Hsu H.Y., Chang M.H., Ni Y.H., Chen H.L. Survey of hepatitis B surface variant infection in children 15 years after a nationwide vaccination programme in Taiwan. *Gut*. 2004; 53 (10): 1499 – 1503.
- Oon C.J., Lim G.K., Ye Z., Koh K.T., Tan K.L., Yo S.L. et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus vaccine variants in Singapore. *Vaccine*. 1995; 13 (8): 699 – 702.
- Oon C.J., Chen W.N. Current aspects of hepatitis B surface antigen mutants in Singapore. *J. Viral. Hepat.* 1998; 5 (Suppl. 2): 17 – 23.
- Bian T., Yan H., Shen L., Wang F., Zhang S., Cao Y. et al. Change of hepatitis B large surface antigen variants after 13 years universal vaccination program in China. *J. Virol. Nov.* 2013; 87 (22): 12196 – 12206.
- Семенов Т.А., Никитина Г.Ю., Птушкин В.В., Ярош Л.В., Кожевникова Г.М., Полонский В.О. и др. Распространенность скрытых и мутантных форм гепатита В у пациентов гематологических отделений многопрофильного стационара. *Клин. Микробиол. и Антимикроб. Химиотерапия*, 2016; 18 (1): 56 – 62.
- Коноплева М.В., Соколова М.В., Беленикин М.С., Кириянов С.А., Шанько А.В., Баженов А.И. и др. Применение высокопроизводительного секвенирования (NGS) для выявления эскейп-мутаций HBV у больных со злокачественными заболеваниями крови. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». Москва. 2017; 1: 62 – 63.
- Wilson J.N., Nokes D.J., Carman W.F. The predicted pattern of emergence of vaccine-resistant hepatitis B: a cause for concern? *Vaccine*. 1999; 17 (7 – 8): 973 – 978.
- Асатрян М.Н., Салман Э.Р., Никитина Г.Ю., Семенов Т.А. Процесс распространения гепатита В на территориях федеральных округов Российской Федерации (компьютерное моделирование). *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2015; 2: 4 – 9.
- Wilson J.N., Nokes D.J., Carman W.F. Current status of HBV vaccine escape variants – a mathematical model of their epidemiology. *J. Viral. Hepat.* 1998; 5 (Suppl. 2): 25 – 30.
- Асатрян М.Н., Салман Э.Р., Килюковский В.В., Киселев К.В., Сипачева Н.Б., Семенов Т.А. Изучение процессов распространения мутантных вариантов «вакцинального бегства» вируса гепатита В с помощью компьютерной эпидемиологической модели. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2013; 6: 34 – 38.
- Waters J.A., Kennedy M., Voet P., Hauser P., Petre J., Carman W. et al. Loss of the common «A» determinant of hepatitis B surface antigen by a vaccine-induced escape mutant. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 2543 – 2547.
- Баженов А.И., Эльгорт Д.А., Фельдшерова А.А., Будницкая П.З., Никитина Г.И., Хац Ю.С. и др. Выявление антител к мутантным формам HBsAg у лиц иммунизированных против гепатита В вакцинами разных субтипов. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2011; 5 (60): 49 – 53.
- Баженов А.И., Эльгорт Д.А., Фельдшерова А.А., Будницкая П.З., Никитина Г.И., Хац Ю.С. и др. Сравнительная оценка активности анти-HBs, индуцированных естественным путём или вакцинацией, в отношении различных вариантов HBsAg. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2012; 2 (63): 76 – 81.
- Komatsu H., Inui A., Umetsu S., Tsunoda T., Sogo T., Konishi Y. et al. Evaluation of the G145R mutant of the hepatitis B virus as a minor strain in mother-to-child transmission. *PLoS One*. 2016; 11 (11): e0165674.
- Noto H., Fujii Y., Takahashi K., Kishimoto S., Mishiro S. Therapeutic effect of preS2-containing vaccine in an infant infected with a vaccine-escape variant (Thr¹²⁷) of hepatitis B virus. *Int. Hepatol. Commun.* 1997; 6 (3 – 4): 158 – 165.
- Merck and Co. Inc. HBsAg escape mutant vaccine. EU Patent 0511 855 A1. Publication date 04.11.1992.
- Thomas H.C., Carman W.F. Hepatitis B vaccine. Patent US 5.639.637. Publication date 17.06.1997.
- DiaSorin International Inc. Escape mutant of the surface antigen of hepatitis B virus. Patent US 6.172.193 B1. Publication date 09.01.2001.
- Коноплева М.В., Соколова М.В., Фельдшерова А.А., Баженов А.И., Суслов А.П. Серологическое портретирование рекомбинантных антигенов вируса гепатита В. *Мед. Иммунология*. 2017; 19 (спец. выпуск): 150.
- Коноплева М.В., Борисова В.Н., Соколова М.В., Фельдшерова А.А., Крымский М.А., Семенов Т.А. и др. Сравнительная характеристика антигенных свойств рекомбинантных и нативных HBs-антигенов с мутацией G145R и оценка их иммуногенности. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62 (4): 179 – 186.
- Ben-Porath E., Wands J.R., Marciniak R.A., Wong M.A., Hornstein L., Ryder R. et al. Structural analysis of hepatitis B surface antigen by monoclonal antibodies. *J. Clin. Invest.* 1985; 76 (4): 1338 – 1347.
- Roohi A., Khoshnoodi J., Zarmani A.H., Shokri F. Epitope mapping of recombinant hepatitis B surface antigen by murine monoclonal antibodies. *Hybridoma (Larchmt)*. 2005; 24 (2): 71 – 77.
- Баженов А.И. Совершенствование методов иммунодетекции HBsAg – мутантов вируса гепатита В. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва; 2009.
- Rezaee R., Poorebrahim M., Najafi S., Sadeghi S., Pourdast A., Alavian S.M. et al. Impacts of the G145R mutation on the structure and immunogenic activity of the hepatitis B surface antigen: a computational analysis. *Hepat. Mon.* 2016; 16 (7): e39097.
- Коноплева М.В., Соколова М.В., Шевлягина Н.В., Баженов А.И., Фельдшерова А.А., Крымский М.А. и др. Морфологический анализ вируса гепатита В с эскейп-мутациями в S-гене G145R и S143L. *Вопр. Вирусологии*. 2017; 62 (3): 119 – 128.
- Zheng X., Weinberger K.M., Gehrke R., Isogawa M., Hilken G., Kempera T. et al. Mutant hepatitis B virus surface antigens (HBsAg) are immunogenic but may have a changed specificity. *Virology*. 2004; 329: 454 – 464.
- Ogata N., Zanetti A.R., Yu M., Miller R.H., Purcell R.H. Infectivity and pathogenicity in chimpanzees of a surface gene mutant of hepatitis B virus that emerged in a vaccinated infant. *J. Infect. Dis.* 1997; 175 (3): 511 – 523.
- Ogata N., Cote P.J., Zanetti A.R., Miller R.H., Shapiro M., Gerin J. et al. Licensed recombinant hepatitis B vaccines protect chimpanzees against infection with the prototype surface gene mutant of hepatitis B virus. *Hepatology*. 1999; 30 (3): 779 – 786.
- Kamili S. Infectivity and vaccination efficacy studies in animal models of HBV S and pol gene mutants. *Antivir. Ther.* 2010; 15 (3 Pt. B): 477 – 485.
- Крымский М.А., Борисов И.А., Яковлев М.С., Агафонов М.О., Тер-Аванесян М.Д., Суслов А.П. и др. Рекомбинантный штамм дрожжей *Hansenula polymorpha* – продуцент мутантного поверхностного антигена вируса гепатита В (варианты). Патент RU № 2586513 С1. Дата публикации 10.06.2016.
- Крымский М.А., Борисов И.А., Яковлев М.С., Мельников В.А., Суслов А.П., Семенов Т.А. и др. Способ оценки уровня антител, специфичных к различным вариантам HBsAg вируса гепатита В. Патент № RU 2616236 С1. Дата публикации 13.04.2017.

References

- Zuckerman A.J. Effect of hepatitis B virus mutants on efficacy of vaccination. *Lancet*. 2000; 355 (9213): 1382 – 1384.
- Fran ois G., Kew M., Van Damme P., Mphahlele M.J., Meheus A. Mutant hepatitis B viruses: a matter of academic interest only or a problem with far-reaching implications? *Vaccine*. 2001; 19 (28 – 29): 3799 – 3815.
- Carman W.F., Zanetti A.R., Karayiannis P., Waters J., Manzillo G., Tanzi E. et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet*. 1990; 366 (8711): 325 – 329.
- Chang M.H. Breakthrough HBV infection in vaccinated children in Taiwan: surveillance for HBV mutants. *Antivir. Ther.* 2010; 15 (3 Pt. B): 463 – 469.
- Bazhenov A.I., Konopleva M.V., El'gort D.A., Fel'dsheroва A.A., Khats Yu.S., Godkov M.A. et al. The algorithm of serological search and estimation of the prevalence of serologically significant HBsAg mutations in chronic carriers of the hepatitis B virus. *Zhurnal Mikrobiologii. [Journal of Microbiology]*. 2007; 6: 30 – 37.
- Kalinina T., Riu A., Fischer L., Will H., Sterneck M. A dominant hepatitis B virus population defective in virus secretion because of several S gene mutations from patient with fulminant hepatitis. *Hepatology*. 2001; 34 (2): 385 – 394.
- Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J. Clin. Virol.* 2005; 32: 102 – 112.

8. Carman W.F., Trautwein C., van Deursen F.J., Colman K., Dornan E., McIntyre G. et al. Hepatitis B virus envelope variation after transplantation with and without hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology*. 1996; 24 (3): 489 – 493.
9. Hsu H.Y., Chang M.H., Ni Y.H., Chen H.L. Survey of hepatitis B surface variant infection in children 15 years after a nationwide vaccination programme in Taiwan. *Gut*. 2004; 53 (10): 1499 – 1503.
10. Oon C.J., Lim G.K., Ye Z., Goh K.T., Tan K.L., Yo S.L. et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus vaccine variants in Singapore. *Vaccine*. 1995; 13 (8): 699 – 702.
11. Oon C.J., Chen W.N. Current aspects of hepatitis B surface antigen mutants in Singapore. *J. Viral. Hepat.* 1998; 5 (Suppl. 2): 17 – 23.
12. Bian T., Yan H., Shen L., Wang F., Zhang S., Cao Y. et al. Change of hepatitis B large surface antigen variants after 13 years universal vaccination program in China. *J. Virol. Nov.* 2013; 87 (22): 12196 – 12206.
13. Semenenko T.A., Nikitina G.Yu., Ptushkin V.V., Yarosh L.V., Kozhevnikova G.M., Polonsky V.O. et al. The prevalence of latent and mutant forms of hepatitis B in patients of hematological departments of a multidisciplinary hospital. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himoterapiya*. [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy]. 2016; 18 (1): 56 – 62.
14. Konopleva M.V., Sokolova M.V., Belenikin M.S., Kir'yanov S.A., Shan'ko A.V., Bazhenov A.I. et al. The use of high-performance sequencing (NGS) to identify escape mutations of HBV in patients with malignant blood diseases. Collection of Proceedings of the 9th All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation «Molecular Diagnostics 2017». Москва. 2017; 1: 62 – 63.
15. Wilson J.N., Nokes D.J., Carman W.F. The predicted pattern of emergence of vaccine-resistant hepatitis B: a cause for concern? *Vaccine*. 1999; 17 (7 – 8): 973 – 978.
16. Asatryan M.N., Salman E.R., Nikitina G.Yu., Semenenko T.A. The process of spreading hepatitis B in the territories of the federal districts of the Russian Federation (computer modeling). *Epidemiologiya i infektsionnie bolezni. Aktualnie problemi*. [Epidemiology and infectious diseases. Topical issues]. 2015; 2: 4 – 9.
17. Wilson J.N., Nokes D.J., Carman W.F. Current status of HBV vaccine escape variants – a mathematical model of their epidemiology. *J. Viral. Hepat.* 1998; 5 (Suppl. 2): 25 – 30.
18. Asatryan M.N., Salman E.R., Kilikovskiy V.V., Kiselev K.V., Sipacheva N.B., Semenenko T.A. Study of the processes of distribution of mutant variants of «vaccinal escape» of the hepatitis B virus by means of a computer epidemiological model. *Epidemiologiya i infektsionnie bolezni. Aktualnie problemi*. [Epidemiology and infectious diseases. Topical issues]. 2013; 6: 34 – 38.
19. Waters J.A., Kennedy M., Voet P., Hauser P., Petre J., Carman W. et al. Loss of the common «A» determinant of hepatitis B surface antigen by a vaccine-induced escape mutant. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 2543 – 2547.
20. Bazhenov A.I., El'gort D.A., Fel'dsherova A.A., Budnitskaya P.Z., Nikitina G.I., Khats Yu.S. et al. Detection of antibodies to mutant forms of HBsAg in persons immunized against hepatitis B with vaccines of different subtypes. *Epidemiologiya i Vakcinoprofilaktika*. [Epidemiology and Vaccinal Prevention]. 2011; 5 (60): 49 – 53.
21. Bazhenov A.I., El'gort D.A., Fel'dsherova A.A., Budnitskaya P.Z., Nikitina G.I., Khats Yu.S. et al. Comparative evaluation of the activity of naturally-induced anti-HBs or vaccination against various HBsAg variants. *Epidemiologiya i Vakcinoprofilaktika*. [Epidemiology and Vaccinal Prevention]. 2012; 2 (63): 76 – 81.
22. Komatsu H., Inui A., Umetsu S., Tsunoda T., Sogo T., Konishi Y. et al. Evaluation of the G145R mutant of the hepatitis B virus as a minor strain in mother-to-child transmission. *PLoS One*. 2016; 11 (11): e0165674.
23. Noto H., Fujii Y., Takahashi K., Kishimoto S., Mishiro S. Therapeutic effect of preS2-containing vaccine in an infant infected with a vaccine-escape variant (Thr¹²⁷) of hepatitis B virus. *Int. Hepatol. Commun.* 1997; 6 (3 – 4): 158 – 165.
24. Merck and Co. Inc. HBsAg escape mutant vaccine. EU Patent 0511 855 A1. Publication date 04.11.1992.
25. Thomas H.C., Carman W.F. Hepatitis B vaccine. Patent US 5.639.637. Publication date 17.06.1997.
26. DiaSorin International Inc. Escape mutant of the surface antigen of hepatitis B virus. Patent US 6.172.193 B1. Publication date 09.01.2001.
27. Konopleva M.V., Sokolova M.V., Feldsherova A.A., Bazhenov A.I., Suslov A.P. Serological portraying of recombinant antigens of the hepatitis B virus. *Med. Immunologia*. [Med. Immunology]. 2017; 19 (special issue): 150.
28. Konopleva M.V., Borisova V.N., Sokolova M.V., Fel'dsherova A.A., Krymsky M.A., Semenenko T.A. Comparative characteristics of antigenic properties of recombinant and native HBs antigens with mutation G145R and evaluation of their immunogenicity. *Voprosi virusologii*. [Problems of Virology]. 2017; 62 (4): 179 – 186.
29. Ben-Porath E., Wands J.R., Marciniak R.A., Wong M.A., Hornstein L., Ryder R. et al. Structural analysis of hepatitis B surface antigen by monoclonal antibodies. *J. Clin. Invest.* 1985; 76 (4): 1338 – 1347.
30. Roohi A., Khoshnoodi J., Zarnani A.H., Shokri F. Epitope mapping of recombinant hepatitis B surface antigen by murine monoclonal antibodies. *Hybridoma (Larchmt)*. 2005; 24 (2): 71 – 77.
31. Bazhenov A.I. Improvement of methods of immunosuppression of HBsAg mutants of hepatitis B virus. Doctorate of med. sci. diss. Moscow; 2009.
32. Rezaee R., Poorebrahim M., Najafi S., Sadeghi S., Pourdast A., Alavian S.M. et al. Impacts of the G145R mutation on the structure and immunogenic activity of the hepatitis B surface antigen: a computational analysis. *Hepat. Mon.* 2016; 16 (7): e39097.
33. Konopleva M.V., Sokolova M.V., Shevlyagina N.V., Bazhenov A.I., Fel'dsherova A.A., Krymsky M.A. Morphological analysis of the hepatitis B virus with escape mutations in the S gene of G145R and S143L. *Voprosi virusologii*. [Problems of Virology]. 2017; 62 (3): 119 – 128.
34. Zheng X., Weinberg K.M., Gehrked R., Isogawaa M., Hilken G., Kempera T. et al. Mutant hepatitis B virus surface antigens (HBsAg) are immunogenic but may have a changed specificity. *Virology*. 2004; 329: 454 – 464.
35. Ogata N., Zanetti A.R., Yu M., Miller R.H., Purcell R.H. Infectivity and pathogenicity in chimpanzees of a surface gene mutant of hepatitis B virus that emerged in a vaccinated infant. *J. Infect. Dis.* 1997; 175 (3): 511 – 523.
36. Ogata N., Cote P.J., Zanetti A.R., Miller R.H., Shapiro M., Gerin J. et al. Licensed recombinant hepatitis B vaccines protect chimpanzees against infection with the prototype surface gene mutant of hepatitis B virus. *Hepatology*. 1999; 30 (3): 779 – 786.
37. Kamili S. Infectivity and vaccination efficacy studies in animal models of HBV S and pol gene mutants. *Antivir. Ther.* 2010; 15 (3 Pt. B): 477 – 585.
38. Crimsky M.A., Borisov I.A., Yakovlev M.S., Agafonov M.O., Ter-Avanesyan M.D., Suslov A.P. et al. The recombinant yeast strain *Hansenula polymorpha* is a producer of the mutant surface antigen of the hepatitis B virus (variants). Patent RU No. 2586513 C1. The date of publication 10/06/2016.
39. Crimsky M.A., Borisov I.A., Yakovlev M.S., Melnikov V.A., Suslov A.P., Semenenko T.A. et al. A method for evaluating the level of antibodies specific for various variants of HBsAg of the hepatitis B virus. Patent No. RU 2616236 C1. Publication Date April 13, 2017.

ERRATA

В статье В.В. Романенко с соавт. «Серологическая характеристика пневмококков, выделенных у детей с диагнозом «Острый средний отит», в Свердловской области», опубликованной в номере 3 (94), была упущена информация о том, что статья подготовлена при финансовой поддержке компании ООО «Пфайзер Инновации». В статье выражена позиция авторов, которая может отличаться от позиции ООО «Пфайзер Инновации».

Pfizer provided financial support to an author for the development of the manuscript. The author's opinion could differ from the official position of the company.