Антигенная вариабельность вируса ящура – причины и следствия

Antigenic variation of foot and mouth disease virus – causes and consequences

Федорова Н.В.

Московская область

DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-6-14
УДК 619:578.835:57.083.2

Ключевые слова: ящур, вирус ящура, антигенная вариабельность, рекомбинация, мутация, вакцинный штамм.

Key words: foot and mouth disease, FMD virus, antigenic variation, recombination, mutation, vaccine strain

Резюме. Статья посвящена изучению причин и следствий антигенной вариабельности вируса ящура. Многолетние исследования данного вопроса позволяют сделать вывод о том, что антигенная изменчивость вируса ящура обуславливается заменами аминокислот в полипептидных фрагментах (антигенных эпитопах), экспонированных на поверхности капсидных белков в зоне G-H петли белка VP1. Как следствие, происходит генерация новых вариантов вируса ящура, которые могут избежать воздействия иммунитета восприимчивого животного. Таким образом, возникает необходимость анализа мутаций, а также постоянного эпизоотического мониторинга с целью выявления изменений в геноме этого вируса для рекомендаций по выбору вакцинных штаммов и средств диагностики.

Федорова Н.В., аспирант, ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности", fistahina@gmail.com

Литенкова И.Ю., кандидат ветеринарных наук, руководитель службы развития, ФКП "Щелковский биокомбинат"

Крюкова Е.Н., кандидат биологических наук, директор департамента маркетинга и развития, ФКП "Щелковский биокомбинат"

Казанцев А.В., специалист, ООО "Синтол"

Матвеева И.Н., доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и вирусологии, ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности"

Fedorova N.V., Litenkova I.Yu., Kryukova E.N., Matveeva I.N., Kazantsev A.V.

Summary. The article is devoted to the study of the causes and consequences of antigenic variation of the foot and mouth disease virus. Long-term studies of this issue suggest that the antigenic variation of foot and mouth disease virus is due to amino acid replacement in polypeptide fragments (antigenic epitopes) exposed on the surface of capsid proteins in the G-H zone of the VP1 protein loop. As a consequence, new variants of the foot and mouth disease virus are generated, which can avoid the effects of the immunity of a susceptible animal. Thus, there is a need to analyze mutations, as well as permanent epizootic monitoring to identify changes in the genome of this virus for recommendations on the selection of vaccine strains and diagnostic tools.

Введение

Проблема антигенной вариабельности вируса ящура помимо большого теоретического интереса представляет в настоящее время существенное практическое значение в программах вакцинации от ящура. Прежде всего, это связано с тем, что иммунная система организма животного часто не распознает вирусы ящура из-за постоянного формирования новых антигенных вариантов.

Вирус ящура является типовым представителем семейства Picornaviridae и рода Aphthovirus. Его геном представлен однонитевой линейной (+) РНК с двунитевыми участками общим размером около 8500 нуклеотидов. На сегодняшний день классифицируют семь серотипов вируса ящура (А, О, С, Азия-1, САТ-1, САТ-2, САТ-3), которые антигенно полностью отличаются друг от друга. При этом вакцина, приготовленная из штамма одного типа не защитит от возбудителя инфекции, относящегося к другому типу [1,2].

Однако, вирус ящура отличается значительной антигенной вариабельностью не только в пределах одного серотипа, но и в пределах линий и сублиний. Эти различия могут спонтанно возникать в разное время и на разных территориях в зависимости от видового состава восприимчивого поголовья, его иммунного статуса, скученного содержания восприимчивых животных разных видов, хозяйственной деятельности человека, военных конфликтов и множества других факторов. При этом, существенные изменения антигенных характеристик полевого изолята приводят к ослаблению специфического иммунитета, индуцированного негомологичным антигеном и могут вызывать серьезные затруднения при диагностике возбудителя.

Целью настоящей работы явилось изучение причин антигенной вариабельности вируса ящура и анализ последствий этих изменений в свете эпизоотической безопасности по ящуру.

Известно, что РНК-вирусы, к которым относится вирус ящура, быстро эволюционируют, что связано с высокой скоростью мутаций, коротким репликативным периодом, значительным размером и разнообразием популяций. Основным источником генетического разнообразия РНК-вирусов являются спонтанные мутации, однако немаловажную роль в этом играют и процессы, связанные с рекомбинациями. Именно эти механизмы обеспечивают, в целом, сохранность вирусной популяции. У вирусов ящура были обнаружены два типа антигенной изменчивости: антигенный дрейф (мутация) и значительный антигенный сдвиг (рекомбинация) [4]. Исследования вируса ящура с использованием обработанного трипсином вируса или химически очищенных вирусных белков показали важность капсидного белка VP1 в антигенной и иммуногенной активности вируса. В 80-х годах XX века было установлено, что иммунизация морских свинок и крупного рогатого скота фрагментами белка VP1, которые находятся в так называемой G-Нпетле, приводила к выработке антител и к защите от заболевания. Позднее было показано, что G-Нпетля белка VP1 присутствует у всех серотипов вируса ящура, но является высоковариабельным участком, что объясняет низкую перекрестную реактивность между разными серотипами вируса.

Таким образом, антигенная изменчивость вируса ящура обуславливается заменами аминокислот в полипептидных фрагментах (антигенных эпитопах), экспонированных на

поверхности капсидных белков в зоне G-Н петли белка VP1. Эти данные позволили сформулировать утверждение, что G-Н петля белка VP1 является иммунодоминантным антигенным участком и рецепторным локусом для вируса ящура и отвечает за индукцию вируснейтрализующих антител.

Анализ последовательности гена VP1 может быть использован для определения филогенетического родства штаммов вирусов ящура и косвенно может служить оценкой вероятностного антигенного соответствия, что дополнительно должно быть подтверждено методикой антигенного соответствия между штаммами (r1) и/или определением двухстороннего родства (R) [6].

Вирус ящура подвергается высокой (от 10^{-5} до 10^{-3}) скорости мутации во время репликации. В основном это связано с отсутствием механизмов проверки ошибок репликации. РНК-вирусы, которые проявляют такой дефект, мутируют со средней скоростью 1 нуклеиновое основание на 103 оснований за цикл репликации. Предполагается, что за год в течение эпизоотического цикла вируса ящура частота мутаций может достигать до 10^{-8} и 10^{-9} нуклеотидных замещений. В результате после каждого цикла репликации возникают новые варианты вирусов ящура, составляющие внутритиповую популяцию с разной степенью генетического родства, ранее описанные как квазивиды. Наибольшая частота мутаций выявлена для участка генома, кодирующего последовательность 130–160 белка VP1, которая является его основной иммуногенной областью [5].

Кроме того, иммунная система инфицированного животного является еще одной движущей силой в эволюции вируса по той причине, что вирусы подвергаются избирательному воздействию иммунного ответа. Скученность животных способствует появлению новых генетических популяций, антигенно не соответствующих друг другу. В данных условиях могут выжить только варианты вирусов, которые не были нейтрализованы иммунной системой [6].

Изменения в генах, кодирующих белки капсиды посредством мутации, могут приводить к антигенной вариации и к появлению иммунологически различных вариантов вируса ящура, которые могут повторно инфицировать животных. Концепция антигенной вариации берет начало из наблюдений и последующих выводов ученых Валле и Карре о том, что животное, которое выздоровело после заражения вирусом ящура, может быть повторно заражено и развить клинические признаки. Основным результатом "иммунологических" мутаций вируса ящура во время эпизоотических вспышек (антигенный дрейф) является изменение аминокислотной последовательности в VP1 [3].

Прогресс в понимании генетических различий, лежащих в основе наблюдаемых антигенных изменений, сыграл важную роль в эпидемиологии заболевания. В настоящее время для изучения истории происхождения новой вирусной популяции и идентификации филогенетических отношений между изолятами и референсными штаммами широко используется нуклеотидное секвенирование вариабельной области гена VP1, продукт которого ответствен за выработку антител в организме животного, и на его основе построение филогенетического древа, наглядно демонстрирующего пути генетических мутаций вируса от прародителей до настоящего времени. Таким образом, происхождение вируса можно проследить, используя нуклеотидную последовательность его генома.

Рекомбинация – еще один важный процесс, управляющий биологией и эволюцией вируса ящура. В РНК-вирусах рекомбинация включает обмен генетическим материалом между двумя несегментированными геномами РНК, полученными в результате перехода полимеразы во время синтеза на другую цепь РНК. Было показано, что генетическая рекомбинация происходит между вирусами ящура одного серотипа, но также и между серотипами.

Кроме того, рекомбинация генов неструктурных белков, потенциально изменяя вирулентность вируса, может способствовать появлению новой сублинии, чтобы восстановить инфекционность.

Внутри типовая рекомбинация происходит чаще, чем межтиповая рекомбинация, и случаи рекомбинации в геноме вируса ящура происходят чаще в 3'-части генома, кодирующей неструктурные белки. Мутации путем рекомбинации могут приводить к обмену генетическим материалом, приводящим к генерации новых антигенных вариантов, которые могут избежать воздействия иммунитета [8].

Таким образом, генерация новых вариантов вируса рассматривается как одна из основных проблем контроля ящура путем вакцинации.

Всемирная справочная лаборатория ФАО по ящуру (WRLFMD, Великобритания), работающая на базе Лаборатории Института Пирбрайта, предоставляет странам-членам МЭБ ежеквартальные и годовые отчеты с рекомендациями по выбору вакцинных штаммов вируса ящура, в том числе по типам вируса О, А, Азия-1, создающим угрозу в региональном пуле Евразии, включая Ближний Восток [7].

В связи с антигенной вариабельностью штаммов вируса ящура и появлению новых генетических линий выбор рекомендуемых вакцинных штаммов вируса ящура со стороны Европейской Комиссии по Борьбе с Ящуром для процесса производства противоящурной вакцины основывается на наибольшей вероятности того, какие подтипы штаммов могут вызвать вспышки ящура в предстоящем году. Выбор штаммов для вакцины основан не просто на географической распространенности штаммов, но и на анализе антигенной схожести или отличия между эпизоотическим изолятом и вакцинными штаммами. Поэтому одним из важных критериев выбора производственного штамма является его широкий антигенный спектр или его доминантность – это способность определенного штамма вируса ящура, используемого для изготовления вакцины, создавать защиту против нескольких подтипов. Такие штаммы в качественном отношении обладают большим числом коиммуногенов с родственными подтипами, а в количественном отношении – большей плотностью иммуногенов.

Всемирная справочная лаборатория ФАО по изучению ящура исследует и анализирует все полученные образцы изолятов вируса ящура. На основании проведенных исследований лаборатория предоставляет результаты антиген-

ного соответствия и филогенетического родства [7].

На основании эпизоотических данных и проведенных исследований Всемирная справочная лаборатория ФАО по ящуру ежегодно рекомендует штаммы с наивысшим приоритетом для включения в вакцинный антигенный банк с учетом обстановки по ящуру в эндемичных странах.

Заключение

Интенсивные миграционные потоки в мировом пространстве в сочетании с активным эволюционным процессом в популяциях вируса ящура создают предпосылки для возникновения новых антигенных вариантов и их быстрого глобального распространения. В связи с этим крайне востребованы программы вакцинации с использованием противоящурных вакцин с современными штаммами вируса ящура. Особое значение имеет анализ мутаций на основе изучения последовательности гена VP1 и последующей фенотипической оценки его антигенных и вируснейтрализующих свойств, а также постоянный эпизоотический мониторинг с целью выявления изменений в геноме этого вируса для дальнейшего отбора штаммов-кандидатов в вакцины.

Литература

1. Пономарев А.П. и др. Вирус ящура: структура, биологические и физико-химические свойства. - Владимир, Фолиант, 2006. - 250 с.
2. Инфекционная патология животных. Руководство: в 7 т. Т. 1. Ящур / ред. А. Я. Самуйленко. - М.: ВНИТИБП, 2014. - 264 с.
3. Carrillo C, Lu Z, Borca MV, Vagnozzi A, Kutish GF, Rock DL. 2007. Genetic and phenotypic variation of foot-and-mouth disease virus during serial passages in a natural host. *J Virol.* 81(20):11341-51.
4. Consuelo Carrillo. Foot and Mouth Disease Virus Genome, Viral Genomes - Molecular Structure, Diversity, Gene Expression Mechanisms and Host-Virus Interactions, Prof. Maria Garcia (Ed.), 2012. ISBN: 978-953-51-0098-0, InTech.
5. Domingo, E., Mateu, M. G., Martinez, M. A., Dopazo, J., Moya, A. and Sorbino, F. (1990): Genetic variability and antigenic diversity of foot and mouth disease virus. *Applied Virol. Res.*, 2:233-266
6. Knowles N. J., Samuel A. R. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus // *Virus Res.* - 2003. - Vol. 91, No. 1. - P. 65-80
7. Molecular epidemiology reports by the FAO World Reference Laboratory for FMD. - URL: http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping (дата обращения: 31.08.18).
8. Neeta longjam, Tilling Tayo. Antigenic variation of foot and mouth disease virus - An overview. *Vet World.* 2011; 4(10): 475-479