

*А. Н. Найхин*

## Гетеросубтипический иммунитет к вирусам гриппа А: эпидемиологические данные, вовлеченность разных иммунологических факторов, вакцинация

НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Постоянная угроза распространения новых пандемических вариантов вируса гриппа А привлекает особое внимание ученых к проблеме формирования гетеросубтипического иммунитета (ГСТИ) к разным подтипам этого возбудителя. Настоящий обзор представляет собой обобщение мировой научной литературы по изучению ГСТИ. Представлены причастные к ГСТИ данные эпидемиологии гриппа, факторы иммунитета и наработки в области создания универсальной противогриппозной вакцины.

*Ключевые слова:* противогриппозный иммунитет, гетеросубтипический иммунный ответ к вирусам гриппа А, противогриппозные вакцины

### Heterosubtypic immunity to influenza A viruses: epidemiological data, involvement of different immunological factors, vaccination

*A. N. Naikhin*

Research Institute of Experimental Medicine, North-Western Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Saint Petersburg

The fact that the spread of new pandemic influenza A strains poses a constant threat to public health attracts the particular attention of scientists to heterosubtypic immunity (HIS) against different subtypes of this pathogen. This review summarizes data from the world scientific literature on studies of HIS. It presents HIS-related data on the epidemiology of influenza, immunity factors, and groundwork for the design of a universal influenza vaccine.

*Key words:* anti-influenza immunity, heterosubtypic immunity to influenza A strains, influenza vaccines

Постоянная антигенная эволюция вируса гриппа А, а также потенциальная опасность возникновения новых пандемий, вызванных высокопатогенными подтипами этого возбудителя, поддерживают неослабевающий интерес к проблеме гетеросубтипического иммунитета (ГСТИ), т. е. иммунитета, генерированного одним подтипом вируса против других подтипов.

Идея о существовании ГСТИ к вирусам гриппа А обсуждается учеными с 1965 г., когда J. Schulman и E. Killbourne [42] впервые представили данные о том, что инфицирование мышей вирусом одного подтипа снижает патологические проявления инфекции и титр вируса в легких при челлендже (заражение с целью проверки протекции) вирусом другого подтипа. Обнаруженный феномен оказался специфичным только для вирусов гриппа А, но не действовал при челлендже вирусом гриппа В. Позднее было показано, что заражение мышей вирусом А (H3N2) с последующим челленджем вирусом А (H1N1) не предотвращало развитие инфекции, вызванной вторым вирусом, но снижало ее тяжесть – вирус поражал трахею и легкие, но не приводил к летальному исходу [63]. Впоследствии наличие такого эффекта между другими подтипами возбудителя было неоднократно продемонстрировано в опытах на свиньях, цыплятах, хлопковых крысах и хорьках [40, 43, 49, 62]. Таким образом, совокупность приведенных выше

данных свидетельствовала о существовании частичного кроссреактивного нестерильного иммунитета между подтипами вируса гриппа А.

На сегодняшний день известны 16 подтипов гемагглютинаина (HA) и 9 подтипов нейраминидазы (NA) у вируса гриппа А. Эти наружные белки, особенно HA, отличаются высокой антигенной пластичностью, главным образом за счет возникновения мутаций в кодирующих их генах. Как полагают, происхождение данных мутаций связано с антителообусловленной селекцией мутантов, не поддающихся нейтрализации. Этот процесс назван антигенным дрейфом, который и диктует ежегодное обновление вакцинных штаммов. Термин “антигенный шифт” означает вступление в циркуляцию штаммов вируса гриппа А с HA, с которым не встречалось либо все население планеты, либо только определенные возрастные контингенты.

Помимо генов, кодирующих поверхностные гликопротеиды вируса гриппа А, т. е. HA и NA, в состав его РНК включены гены двух матричных белков (M1 и M2), трех полимеразных (PB1, PB2 и PA) и трех неструктурных белков (NS1, NS2-NEP и PB1-F2). Все эти белки являются высококонсервативными в пределах разных подтипов. Именно они главным образом индуцируют кроссреактивные факторы иммунитета, хотя непластичные последовательности обнаружены и в составе HA.

---

*Контактная информация:*

Найхин Анатолий Нойевич, д-р мед. наук, проф., рук. лаб.; e-mail: vaccine@mail.ru

В настоящем обзоре мы попытались обобщить накопленные эпидемиологические и иммунологические данные о ГСТИ.

### Эпидемиологические данные

Эти данные ограничены, но имеют очень весомое значение в обосновании функции ГСТИ в эпидемическом процессе при гриппе А. По нашему мнению, существует три наиболее доказательных прямых или косвенных аргумента в пользу важного значения ГСТИ в защите людей от возбудителя гриппа.

Первый аргумент (прямой) – существование обратной зависимости между показателями регистрируемой заболеваемости населения в начальный период новых пандемий, вызванных шифтовыми вариантами вируса, с одной стороны, и инфицированием в период предшествующего пандемического цикла, с другой. Так, в проведенных в то время эпидемиологических исследованиях доказано наличие такой зависимости во время пандемий гриппа А (H2N2) в 1957 г. [19, 44] и гриппа А (H3N2) в 1968 г. [1]. Опубликованы также данные о взаимном влиянии на заболеваемость гриппом А (H1N1) и А (H3N2) при их совместной циркуляции с 1977 г. [48].

Второй аргумент (косвенный) – наличие четко выраженной схожести повозрастной структуры заболеваемости населения при развитии всех фиксированных пандемических циклов: грипп всегда поражал прежде всего детей, а среди взрослых наблюдалось снижение заболеваемости по мере возрастания количества встреч с предшествующими подтипами вируса гриппа А, т. е. увеличения количественных показателей кроссреактивной иммунологической памяти [1, 30].

Третий аргумент, тоже косвенный, – регистрация тотальной заболеваемости в сочетании с высокой смертностью во всех возрастных группах длительно изолированных коллективов (или коллективов с очень ограниченными внешними контактами) при заносе возбудителя гриппа в период всех фиксированных в истории пандемий [2]. Этот феномен наблюдали у коренных жителей Сибири и Дальнего Востока, Аляски, северных регионов Канады, изолированных океанических островов, аборигенов Австралии. Такой тип заболеваемости являлся следствием отсутствия или очень слабой выраженности ГСТИ у жителей изолированных территорий.

### Факторы иммунитета, участвующие в ГСТИ

Абсолютное большинство накопившейся к настоящему времени информации о факторах адаптивного ГСТИ к вирусам гриппа А получены в эксперименте на мышах.

*CD8+ Т-клетки.* Узнавание специфическими Т-клетками пептидов вируса гриппа А происходит в ассоциации с главным комплексом гистосовместимости, представленным молекулами I и II классов. Иммуногенные пептиды являются продуктами вирусных генов. Большинство Т-клеток включают наиболее функциональные специфичности, которые узнают консервативные эпитопы цитоплазматических и нуклеарных белков, общие для всех подтипов вируса гриппа А. Такие клетки и являются одним из компонентов ГСТИ.

Субпопуляции кроссреактивных Т-клеток описаны в ранних работах [14, 61, 66]. Главным итогом этих исследований явилась констатация важного факта – у инфицированных мышей цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ), несущие маркер CD8+, могли лизировать клетку-мишень после челленджа гетерологичным штаммом.

Роль клеток CD8+ в ГСТИ изучена на нокаутных мышах с выключенными участками генов, ответственных за продукцию или рецепцию через TCR данной популяции лимфоцитов, а также на мышах, которым проводили антительное истощение вирусспецифических CD8+

Т-клеток. Были показаны, во-первых, частичная отмена ГСТИ при антительном истощении CD8+ Т-клеток, во-вторых, наличие частичной протекции после челленджа гетерологичным подтипом вируса гриппа А при адаптивном переносе нокаутным мышам кроссреактивных культуральных CD8+ Т-клеток [29]. Кроме того, было установлено, что мишенью для этих клеток служит не только вирусный NP [52], но и консервативные домены других белков: PA [6], M1 [28], HA и NA [39]. На сегодняшний день кроссреактивный CD8+ Т-клеточный иммунный ответ к внутренним белкам вируса гриппа А продемонстрирован при введении мышам многих подтипов вируса гриппа А: А (H1N1), А (H2N2), А (H3N2), А (H5N1), А (H5N2), А (H7N9) [23].

Расшифрованы некоторые механизмы участия в ГСТИ CD8+ Т-клеток. Так, показана роль перфорина и Fas-опосредованного пути в клиренсе вируса кроссреактивными лимфоцитами этого фенотипа [57]. Отмечено важное значение в ГСТИ CD8+ Т-клеточного хоминга [9].

В исследованиях, включающих анализ индукции кроссреактивных CD8+ Т-клеток в сочетании с данными о тяжести инфекции у различных животных (мыши, хорьки, цыплята, свиньи, хлопковые крысы) после челленджа гетерологичным подтипом вируса гриппа А, отмечен факт ограниченности ГСТИ. Последний проявляется в том, что челлендж гетерологичным вирусом гриппа А не предотвращал развитие инфекции, но обеспечивал снижение ее клинических проявлений и показателей смертности [38, 43, 49, 62, 63]. Такое снижение выраженности патологических симптомов связано с обусловленным ГСТИ ускорением клиренса вируса из верхних и нижних отделов дыхательного тракта.

У людей кроссреактивные CD8+ Т-клетки изучены значительно слабее. У невакцинированных лиц обнаружены Т-клетки, специфичные к M1 и NP птичьих вирусов А (H5N1) и А (H5N2) [26, 28]. Это связано с тем, что гриппозная инфекция, вызываемая циркулирующими вирусами А (H1N1) и А (H3N2), и противогриппозная вакцинация сезонными вакцинами сопровождается накоплением CD8+ Т-клеток, специфичных к консервативным антигенам свиного и птичьих вирусов гриппа А [12]. Не исключено участие этих клеток в сдерживании эпидемического распространения среди людей зоонозных подтипов возбудителя.

*CD4+ Т-клетки.* Роль этих клеток в ГСТИ изучена слабее, чем CD8+ Т-клеток. CD4+ Т-клетки важны для обеспечения переключения продукции разных классов иммуноглобулинов, в возникновении соматических мутаций в В-клетках и развитии высокоавидного противовирусного антительного ответа.

После антительного истощения CD4+ Т-клеток титр вируснейтрализующих антител у мышей резко снижался [15]. Однако аналогичное истощение этих клеток перед развитием экспериментальной гриппозной инфекции выражалось только в слабой задержке вирусного клиренса [3, 15]. По-видимому, данный феномен связан с незначительным участием клеток CD4+ в цитотоксическом иммунном ответе [3].

Заражение мышей человеческим циркулирующим вирусом гриппа А (H1N1) индуцировало продукцию кроссреактивных CD4+ Т-клеток к HA, NA и NP птичьего вируса А (H5N1) [39]. У невакцинированных людей выявлены CD4+ Т-клетки памяти, специфичные к M1 и NP птичьих вирусов H5N1 в H5N2 [28]. Данные о непосредственном участии CD4+ Т-клеток в ГСТИ неоднозначны.

Адаптивный перенос CD4+ Т-клеток (специфичных к внутренним белкам вируса гриппа А) от взрослых праймированных мышей новорожденным животным ускорял у последних вируснейтрализующий антительный ответ к HA вируса [41]. Это свидетельствует о способности хел-

перных клеток потенцировать продукцию антител и при ГСТИ. Истощение CD4+ Т-клеток перед челленджем гетеросубтипическим вирусом гриппа А частично отменяло ГСТИ [29]. Однако такое истощение слабо влияло на выживаемость мышей при летальном гетеросубтипическом челлендже [17]. Частичную гетеросубтипическую защиту, проявляемую снижением титра гетерологичного вируса в легких, оказывали поликлональные CD4+ Т-клетки памяти у нокаутных мышей, дефицитных по В- и CD8+ Т-клеткам [53]. По данным D. Brown и соавт. [7], субпопуляция цитотоксических CD4+ Т-клеток играет роль в снижении тяжести гриппозной инфекции только в отсутствие CD8+ Т-клеток.

Важно также отметить, что у невакцинированных людей были обнаружены CD4+ Т-клетки иммунологической памяти к птичьему вирусу А(Н5N1) и свиному вирусу А(Н1N1) [26].

*Другие Т-клетки.* В опыте с NK-дефицитными мышами показано отсутствие или очень незначительное влияние этих клеток на ГСТИ [4]. Однако  $\gamma\delta$ -Т-клеточно-дефицитные мыши (популяция  $\gamma\delta$ -Т-клеток не несет маркеры CD4 и CD8) с истощенными CD4+ и CD8+ Т-клетками теряли способность к развитию ГСТИ [4]. Это свидетельствует о том, что данные клетки принимают участие в ГСТИ.

*Антитела и В-клетки.* Вируснейтрализующие антитела (преимущественно к НА) являются важным компонентом в развитии адаптивного гомологичного противогриппозного иммунитета. Традиционно на них направлено основное внимание при оценке иммуногенности вакцин. Анти-НА-антитела также участвуют в защите людей от гриппа [34], снижении титра вируса в дыхательных путях и летальности зараженных животных [16, 33].

Непрямая поддержка антительного ГСТИ показана в исследованиях на мышцах, дефектных по терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазе (TdT), которая участвует в усилении антителообразования [35]. У таких мышей (TdT-/-) отмечено снижение развития ГСТИ, несмотря на функционирование ЦТЛ.

Между тем в другом эксперименте продемонстрировано частичное сохранение ГСТИ у мышей, лишенных возможности продуцировать системные и локальные антитела [4].

Более прямые доказательства участия антител в ГСТИ получены в исследованиях с новорожденными мышами, которые появились от самок, вакцинированных в неонатальный период развития плода [32]. Эти данные указывали на роль материнских антител в обеспечении ГСТИ к разным подтипам вируса гриппа А у новорожденных животных.

Наиболее перспективными в отношении индукции кроссреактивных антител считаются вирусные NP и M2, которые активно экспрессируются на поверхности инфицированных клеток [25]. Наличие ГСТИ продемонстрировано при адоптивном переносе анти-M2-антител или поствакцинальной индукции этих антител [20, 21, 56, 60]. Введение мышам солибилизированного NP хорошо индуцировало анти-NP-антитела и повышало гетеросубтипическую резистентность к разным подтипам вируса гриппа А [8].

Обращает на себя внимание факт обнаружения вируснейтрализующих антител к птичьему вирусу гриппа А(Н5N1) в сыворотках крови доноров из Европы, Северо-Восточной Азии и Австралии [51].

Получены весьма интересные данные об индукции у лабораторных животных перекрестно реагирующих вируснейтрализующих антител и секретирующих их В-клеток к гемагглютинином Н1, Н2, Н5, Н6 [36, 37, 45, 46]. У людей, привитых сезонной гриппозной вакциной, выделены В-клетки памяти, продуцирующие моноклональные антитела с кроссреактивностью к гемагглюти-

нинам Н1, Н2, Н3, Н5, Н9 и Н13 [64]. Пассивное введение мышам или хорькам этих антител обеспечивало перекрестную защиту от заражения вирусами гриппа А разных подтипов. В другой работе [13] показано, что вакцинация людей сезонной вакциной стимулировала накопление у них клонов В-клеток, секретирующих моноклональные IgM- и IgG-антитела, которые были специфичны к гемагглютинином Н1, Н2, Н5, Н6 и Н9. Эти антитела защищали мышей от челленджа пандемическим вирусом А(Н1N1) и птичьим вирусом А(Н5N1).

В совокупности полученные данные по выделению таких антител открывают новую перспективу для создания универсальной противогриппозной вакцины [11]. Высказано мнение, что накопление у людей антител к консервативным эпитопам всех белков вирусов гриппа А поддерживается повторяющимися встречами организма с ныне циркулирующими возбудителями А(Н1N1) и А(Н3N2) [48].

*Продолжительность ГСТИ.* По данным работы [18], у мышей, иммунизированных рекомбинантным NP, защита против летального челленджа вирусом А(Н5N1) сохранялась до 5–6 мес. Введение мышам консервативных эпитопов вирусного белка М1 в липосомальной форме вызывало пролонгированную индукцию (6 мес) кроссреактивных CD8+ Т-клеток, специфичных к вирусам А(Н1N1) и А(Н3N2) [31]. Иммунизация мышей адъювантной вакциной типа А(Н5N1) стимулировала кроссреактивные антитела к вирусу А(Н1N1), которые сохранялись до 6 мес [27]. Однако по другим данным, мыши, инфицированные вирусом А(Н3N2), оказались защищенными от летального челленджа вирусом А(Н5N1) только в течение 1 мес [5].

Эпидемиологические наблюдения в период пандемии гриппа А(Н2N2) показали, что защита людей от этого возбудителя, связанная с контактами с предшествующим подтипом А (Н1N1), сохраняется от нескольких месяцев [19] до 3 лет [44]. Следовательно, в последнем случае ГСТИ влиял на заболеваемость не только в период первой волны пандемии в 1957 г., но и при развитии двух последующих волн.

### ГСТИ и противогриппозная вакцинация

Имеются многочисленные публикации, посвященные индукции адаптивного иммунитета различными гриппозными вакцинами. В настоящем разделе приведены только те из них, которые содержат информацию о ГСТИ. В последнее время данное направление вакцинальной иммунологии гриппа активно развивается. Это связано с тем, что существующие сезонные гриппозные вакцины обеспечивают протекцию только против дрейфовых вариантов циркулирующих подтипов вируса гриппа А, а в случае возникновения угрозы пандемического распространения новых подтипов вируса приготовление традиционных гомологичных вакцин требует довольно много времени (до 6 мес). Поэтому сейчас особый интерес проявляется к оценке способности стимулировать ГСТИ как разными типами уже применяемых вакцин, так и разрабатываемыми вакцинами нового поколения с фокусированием внимания на индукции иммунного ответа к консервативным антигенным структурам вириона.

Проведено изучение формирования ГСТИ при иммунизации сезонными живыми (ЖГВ) и инактивированными (ИГВ) гриппозными вакцинами.

Вакцинация мышей сезонной ИГВ стимулировала ГСТИ в виде накопления перекрестно реагирующих CD8+ Т-клеток, специфичных к PA и NP вируса А(Н5N2) [5], и антител к гемагглютинуину Н5 [58]. Вакцинация сезонной ЖГВ вызывала у мышей накопление IgM и IgG В-клеток, а также антител, специфичных к консервативному домену НА вируса А(Н5N1) [12, 54]. Отмечена го-

раздо более высокая способность ЖГВ по сравнению с ИГВ стимулировать перекрестно реагирующие CD4+ и CD8+ Т-клетки памяти к разным подтипам вируса гриппа А [24, 47, 50, 60]. Это свидетельствует о том, что при угрозе пандемического распространения новых шифтовых возбудителей гриппа А существующие ЖГВ могут быть использованы для экстренной профилактики заболеваний в период до создания гомологичных вакцин.

В связи с известными событиями последних лет, связанными с распространением среди людей птичьего вируса А(Н5N1) и вступлением в пандемическую циркуляцию вируса А(Н1N1) с тройной рекомбинацией генома (фрагменты свиного, птичьего и человеческого вируса), в последнее время резко активировались экспериментальные исследования по созданию разных типов новых гетеросубтипических вакцин, способных защищать от широкого спектра возбудителей гриппа А.

Испытаны на мышах ДНК-вакцины с аденовирусным вектором, экспрессирующие NP, M2 и NP + M2 [10, 55]. Эти препараты стимулировали накопление CD8+ Т-клеток и антител, специфичных к данным вирусным белкам. Кроме того, они защищали от летального челленджа новым пандемическим вирусом А(Н1N1) и птичьим вирусом А(Н5N1). Другую ДНК-вакцину, экспрессирующую те же белки, вводили мышам после иммунизации сезонной ЖГВ [38]. Такая схема значительно усиливала накопление в легких перекрестно реагирующих IgA и защищала от летального челленджа пандемическим вирусом А(Н1N1) и вирусом А(Н5N1). Создан вариант ДНК-вакцины, экспрессирующий иммунодоминантные эпитопы вируса лимфоцитарного хориоменингита, комплементарные перекрестно реагирующим CD8+ Т-клеткам [27]. Предварительная иммунизация мышей вирусом А(Н1N1) с последующим введением этой вакцины приводила к узнаванию CD8+ Т-клетками HA и NA вирусом А(Н1N1), А(Н3N2) и А(Н5N1), а также к формированию перекрестной защиты от их летальной дозы.

Изучен ГСТИ при введении мышам липосомальной вакцины, включающей эпитопный участок M1, который узнается специфическими CD8+ Т-клетками [31]. Препарат индуцировал кроссреактивную популяцию данных клеток, проявлявших специфичность к вирусам А(Н1N1) и А(Н3N2).

В эксперименте на животных апробированы адьювантные вакцины. Так, у мышей, иммунизированных наружным доменом M2 (M2e) в сочетании с алюминием, наблюдали высокие титры IgG к этому домену. Это способствовало повышению уровня защиты от летального челленджа вирусами А(Н1N1) и А(Н5N1). Вакцину, приготовленную из химерных вирусоподобных частиц, включающих HA и M1 вируса А(Н1N1), вводили мышам вместе с адьювантом флагеллином [59]. Такая вакцина увеличивала накопление перекрестно реагирующих IgG<sub>2a</sub> и IgG<sub>2b</sub> (но не IgG<sub>1</sub>) к вирусу А(Н3N2), а также специфичных к данному вирусу CD8+ Т-клеток. Иммунизация мышей вирусом Н5N2 с адьювантом Фрейнда стимулировала перекрестно реагирующие антитела к вирусу А(Н1N1) [27].

Проведено исследование по вакцинации мышей солибилизованным цельным NP [8] или его тетрамерной формой [65]. Вакцинация приводила к продукции NP-специфических вируснейтрализующих антител и защищала от летального челленджа вирусами А(Н1N1) и А(Н3N2) даже при слабом накоплении специфических к NP CD8+ Т-клеток. Выраженность ГСТИ зависела от способа инактивации вирусом гриппа А [22].

Таким образом, в опытах на животных получены весьма обнадеживающие данные об индукции ГСТИ разными типами вакцин. Однако эти работы пока не вышли за рамки эксперимента.

## Заключение

Постоянное внимание ученых к ГСТИ к вирусам гриппа А связано с комплексом причин – непрекращающейся антигенной изменчивостью вируса, угрозой пандемического распространения новых подтипов, узкой антигенной специфичностью существующих вакцин, неясностями в ряде закономерностей эпидемического процесса при гриппе А, недостаточной информацией о факторах иммунитета, участвующих в развитии этого типа иммунитета.

Накопленные эпидемиологические данные прямо или косвенно свидетельствуют о влиянии ГСТИ на эпидемический процесс в виде снижения тяжести инфекционного процесса при пандемическом распространении новых подтипов вируса гриппа А.

Экспериментальные исследования ГСТИ на различных лабораторных животных подтверждают эти данные. Так, ГСТИ снижает патологические проявления гриппа. Кроме того, он обеспечивает частичную защиту животных при летальном челлендже. Основными факторами иммунитета, участвующими в ГСТИ, являются перекрестно реагирующие CD8+ Т-клетки (ЦТЛ) и В-клетки, секретирующие кроссреактивные вируснейтрализующие антитела. Доказано, что в ГСТИ задействованы ЦТЛ и антитела, проявляющие специфичность к внутренним белкам вириона NP и M2. Роль ЦТЛ и антител, специфичных к другим внутренним белковым структурам (NS1, NS2, белкам полимеразного комплекса), требует дополнительного изучения. Опубликованы данные о прямом участии в ГСТИ CD4+ Т-клеток. Скорее всего компонентами ГСТИ являются также γδ-Т-клетки. Возможно, к этому причастны и другие субпопуляции Т-лимфоцитов. Доказана стимуляция кроссреактивных Т-клеток и антител при заражении животных практически всеми подтипами вирусов гриппа А.

Активно разрабатываются разные типы универсальных вакцин, но эти исследования пока носят экспериментальный характер. Наиболее обнадеживающие результаты получены при испытании разных вариантов ДНК-вакцин с аденовирусным вектором. Клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о более высокой способности ЖГВ в сравнении с ИГВ индуцировать ГСТИ на системном и локальном уровнях. Это открывает перспективу применения ЖГВ в качестве профилактического препарата «первого эшелона» при угрозе пандемического распространения нового подтипа вируса гриппа А. Оптимальным вариантом универсальной вакцины будет тот препарат, который сможет способствовать индукции у людей ГСТИ достаточно высокого уровня не менее чем на несколько месяцев.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Смородицнев А. А. Грипп и его профилактика. – М.: Медицина, 1984.
2. Сунотницкий М. В. Пандемия «испанки» 1918–1920 гг. в контексте других гриппозных пандемий и «птичьего гриппа» // Мед. картотека. – 2006. – № 1. – С. 16–22; № 11. – С. 31–34; № 12. – С. 15–28; 28–30.
3. Allan W., Tabi Z., Cllary A., Doherty P. C. Cellular events in the lymph node and lung of mice with influenza. Consequences of depleting CD4+ T cells // J. Immunol. – 1990. – Vol. 144, N 10. – P. 3980–3986.
4. Benton K. A., Misplon J. A., Lo C. X. et al. Heterosubtypic immunity to influenza A virus in mice lacking IgA, all Ig, NKT cell, or gamma delta T cells // J. Immunol. – 2001. – Vol. 166, N 12. – P. 7437–7445.
5. Bodewes R., Kreijtz J. H., Baas C. et al. Vaccination against human influenza A/H3N2 virus prevents the induction of heterosubtypic immunity against lethal infection with avian influenza A/H5N1 virus // PLoS One. – 2009. – Vol. 4, N 5. – P. e5538.
6. Bodewes R., Kreijtz J. H., Hillaire M. L. et al. Vaccination with whole inactivated virus vaccine affects the induction of heterosubtypic im-

- munity against influenza virus A/H5N1 and immunodominance of virus-specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses in mice // *J. Gen. Virol.* – 2010. – Vol. 91, N 7. – P. 1743–1753.
7. Brown D. M., Dilzer A. M., Meents D. L., Swain S. L. CD4 T cell-mediated protection from lethal influenza: perforin and antibody-mediated mechanisms give a one-two punch // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, N 5. – P. 2888–2898.
  8. Carragher D. M., Kaminski D. A., Moquin A. et al. A novel role for non-neutralizing antibodies against nucleoprotein in facilitating resistance to influenza virus // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, N 6. – P. 4168–4176.
  9. Cerwenka A., Morgan T. M., Dutton R. W. Naive, effector, and memory CD8 T cells in protection against pulmonary influenza virus infection: homing properties rather than initial frequencies are crucial // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 163, N 10. – P. 5535–5543.
  10. Chang H., Huang C., Wu J. et al. A single dose of DNA vaccine based on conserved H5N1 subtype proteins provides protection against lethal H5N1 challenge in mice pre-exposed to H1N1 influenza virus // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 7. – P. 197.
  11. Chen G. L., Subbarao K. Attacking the flu: neutralizing antibodies way lead to «universal» vaccine // *Nat. Med.* – 2009. – Vol. 15. – P. 1251–1252.
  12. Cheng X., Eisenbraun M., Xu Q. et al. H5N1 vaccine-specific B cell responses in ferrets primed with live attenuated seasonal influenza vaccines // *PLoS One.* – 2009. – Vol. 4, N 2. – P. e4436.
  13. Corti D., Suguitan A. L. Jr., Pinna D. et al. Heterosubtypic neutralizing antibodies are produced by individuals immunized with a seasonal influenza vaccine // *J. Clin. Invest.* – 2010. – Vol. 120, N 5. – P. 1663–1673.
  14. Effros R. B., Doherty P. C., Gerhard W., Bennink J. Generation of both cross-reactive and virus-specific T-cell populations after immunization with serologically distinct influenza A viruses // *J. Exp. Med.* – 1977. – Vol. 145, N 3. – P. 557–568.
  15. Eichelberger M. C., Wang M. L., Allan W. et al. Influenza virus RNA in the lung and lymphoid tissue of immunologically intact and CD4-depleted mice // *J. Gen. Virol.* – 1991. – Vol. 72, N 7. – P. 1695–1698.
  16. Epstein S. L., Misplon J. A., Lawson C. M. et al. Beta 2-microglobulin-deficient mice can be protected against influenza A infection by vaccination with vaccine-influenza recombinants expressing hemagglutinin and neuraminidase // *J. Immunol.* – 1993. – Vol. 150, N 12. – P. 5484–5493.
  17. Epstein S. L., Lo C. Y., Misplon J. A. et al. Mechanisms of heterosubtypic immunity to lethal influenza A virus infection in fully immunocompetent, T cell-depleted, beta2-microglobulin-deficient, and J chain-deficient mice // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 158, N 3. – P. 1222–1230.
  18. Epstein S. L., Kong W. P., Misplon J. A. et al. Protection against multiple influenza A subtypes by vaccination with highly conserved nucleoprotein // *Vaccine.* – 2005. – Vol. 23, N 46–47. – P. 5404–5410.
  19. Epstein S. L. Prior H1N1 influenza infection and susceptibility of Cleveland Family Study participants during the H2N2 pandemic of 1957: an experiment of nature // *J. Infect. Dis.* – 2006. – Vol. 193, N 1. – P. 49–53.
  20. Ernst W. A., Kim H. J., Tumpey T. M. et al. Protection against H1, H5, H6 and H9 influenza A infection with liposomal matrix 2 epitope vaccines // *Vaccine.* – 2006. – Vol. 24. – P. 5158–5168.
  21. Fan J., Liang X., Horton M. S. et al. Preclinical study of influenza virus A M2 peptide conjugate vaccines in mice, ferrets, and rhesus monkeys // *Vaccine.* – 2004. – Vol. 22. – P. 2993–3003.
  22. Furuya Y., Regner M., Lobigs M. et al. Effect of inactivation method on the cross-protective immunity induced by whole ‘killed’ influenza A viruses and commercial vaccine preparations // *J. Gen. Virol.* – 2010. – Vol. 91, N 6. – P. 1450–1460.
  23. Grebe K. M., Yewdell J. W., Bennink J. K. Heterosubtypic immunity to influenza A virus: where do we stand? // *Microb. Infect.* – 2008. – Vol. 10, N 9. – P. 1024–1029.
  24. Hammitt L. L., Bartlett J. P., Li S. et al. Kinetic of viral shedding and immune responses in adults following administration of cold-adapted influenza vaccine // *Vaccine.* – 2009. – Vol. 27, N 52. – P. 7359–7366.
  25. Hughey P. G., Roberts P. C., Holsinger L. J. et al. Effects of antibody to the influenza A virus M2 protein on M2 surface expression and virus assembly // *Virology.* – 1995. – Vol. 212, N 2. – P. 411–421.
  26. Jameson J., Cruz J., Terajima M., Ennis F. A. Human CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T lymphocyte memory to influenza A viruses of swine and avian species // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 162, N 12. – P. 7578–7583.
  27. Langley W. A., Bradley K. C., Li Z. N. et al. The effects of preexisting immunity to influenza on responses to influenza vectors in mice // *Vaccine.* – 2010. – Vol. 28, N 38. – P. 6305–6313.
  28. Lee L. Y., Hado L. A., Simmons C. et al. Memory T cells established by seasonal human influenza A infection cross-react with avian influenza A(H5N1) in healthy individuals // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Vol. 118, N 10. – P. 3478–3490.
  29. Liang S., Mozdanowska K., Palladino G., Gerhard W. Heterosubtypic immunity to influenza type A virus in mice. Effector mechanisms and their longevity // *J. Immunol.* – 1994. – Vol. 152, N 4. – P. 1653–1661.
  30. Mathews J. D., McBryde E. S., McVernon J. et al. Prior immunity helps to explain wave-like behavior of pandemic influenza in 1918–1919 // *BMC Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 10, N 128. – P. 1–9.
  31. Matsui M., Kohyama S., Suda T. et al. A CTL-based liposomal vaccine capable of inducing protection against heterosubtypic influenza viruses in HLA-A\*0201 transgenic mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 391, N 3. – P. 1494–1499.
  32. Mbawuike I. N., Six H. R., Cate T. R., Couch R. B. Vaccination with inactivated influenza F virus during pregnancy protects neonatal mice against lethal challenge by influenza A viruses representing three subtypes // *J. Virol.* – 1990. – Vol. 64, N 3. – P. 1370–1374.
  33. Mozdanowska K., Maiese K., Furchner M., Gerhard W. Treatment of influenza virus-infected SCID mice with non-neutralizing antibodies specific for the transmembrane proteins matrix 2 and neuraminidase reduces the pulmonary virus titer but fails to clear the infection // *Virology.* – 1999. – Vol. 254, N 1. – P. 138–146.
  34. Naikhin A. N., Tsaritsina I. M., Oleinikova E. V. et al. The importance of antineuraminidase antibodies in resistance to influenza A and immunologic memory for their synthesis // *J. Hyg. Camb.* – 1983. – Vol. 91, N 1. – P. 131–138.
  35. Nguyen H. H., Zemlin M., Ivanov I. I. et al. Heterosubtypic immunity to influenza A virus infection requires a properly diversified antibody repertoire // *J. Virol.* – 2007. – Vol. 81, N 17. – P. 9331–9338.
  36. Okumo Y., Isegawa Y., Sasao F., Ueda S. A common neutralizing epitope conserved between the hemagglutinins of influenza A virus H1 and H2 strains // *J. Virol.* – 1993. – Vol. 67, N 5. – P. 2552–2558.
  37. Okuno Y., Matsumoto K., Isegawa Y., Ueda S. Protection against the mouse-adapted A/FM/1/47 strain of influenza A virus in mice by a monoclonal antibody with cross-neutralizing activity among H1 and H2 strains // *J. Virol.* – 1994. – Vol. 68, N 1. – P. 517–520.
  38. Price G. E., Soboleski M. R., Lo C. Y. et al. Vaccination focusing immunity on conserved antigens protects mice and ferrets against virulent H1N1 and H5N1 influenza A viruses // *Vaccine.* – 2009. – Vol. 27, N 47. – P. 6512–6521.
  39. Richards K. A., Chaves F. A., Sant A. J. Infection of HLA-DR1 transgenic mice with a human isolate of influenza A virus (H1N1) primes a diverse CD4 T-cell repertoire that includes CD4 T cells with heterosubtypic cross-reactivity to avian (H5N1) influenza virus // *J. Virol.* – 2009. – Vol. 83, N 13. – P. 6566–6577.
  40. Richt J. A., Lekcharoensuk P., Lager K. M. et al. Vaccination of pigs against swine influenza viruses by using an NS1-truncated modified live-virus vaccine // *J. Virol.* – 2006. – Vol. 80, N 22. – P. 11009–11018.
  41. Scherle P. A., Gerhard W. Functional analysis of influenza-specific helper T cell clones *in vivo*. T cells specific for internal viral proteins provide cognate help for B cell responses to hemagglutinin // *J. Exp. Med.* – 1986. – Vol. 164, N 4. – P. 1114–1128.
  42. Schulman J. L., Kilbourne E. D. Induction of partial specific heterotypic immunity in mice by a single infection with influenza A virus // *J. Bacteriol.* – 1965. – Vol. 89. – P. 170–174.
  43. Seo S. H., Webster R. G. Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong poultry markets // *J. Virol.* – 2001. – Vol. 75, N 6. – P. 2516–2525.
  44. Slepushkin A. N. The effect of a previous attack of A1 influenza on susceptibility to A2 virus during the 1957 outbreak // *Bull. World Hlth Organ.* – 1959. – Vol. 20, N 23. – P. 297–301.
  45. Smirnov Y. A., Lipatov A. S., Gitelmn A. K. et al. An epitope shared by the hemagglutinins of H1, H2, H5, and H6 subtypes of influenza A virus // *Acta Virol.* – 1999. – Vol. 43, N 4. – P. 37–44.
  46. Smirnov Y. A., Lipatov A. S., Gitelman A. K. et al. Prevention and treatment of bronchopneumonia in mice caused by mouse-adapted variant of avian H5N2 influenza A virus using monoclonal antibody against conserved epitope in the HA stem region // *Arch. Virol.* – 2000. – Vol. 145. – P. 1733–1741.
  47. Song J. H., Nguyen H. H., Cuburu N. et al. Sublingual vaccination with influenza virus protects mice against lethal viral infection // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105, N 5. – P. 1644–1649.
  48. Sonoguchi T., Naito H., Hara M. et al. Cross-subtype protection in humans during sequential, overlapping, and/or concurrent epidemics caused by H3N2 and H1N1 influenza viruses // *J. Infect. Dis.* – 1985. – Vol. 151, N 1. – P. 81–88.
  49. Straight T. M., Ottolini M. G., Prince G. A., Eichelberger M. C. Evidence of a cross-protective immune response to influenza A in the cotton rat

- model // *Vaccine*. – 2006. – Vol. 24, N 3739. – P. 6264–6271.
50. *Straight T. M., Ottolini M. G., Prince G. A., Eichelberger M. C.* Antibody contributes to heterosubtypic protection against influenza A-induced tachypnea in cotton rats // *Virology*. – 2008. – Vol. 5. – P. 44.
  51. *Sullivan J. S., Selleck P. W., Downton T.* et al. Heterosubtypic antiavian H5N1 influenza antibodies in intravenous immunoglobulins from globally separate populations protect against H5N1 infection in cell culture // *J. Mol. Genet. Med.* – 2009. – Vol. 3, N 2. – P. 217–224.
  52. *Taylor P. M., Askonas B. A.* Influenza nucleoprotein-specific cytotoxic T-cell clones are protective *in vivo* // *Immunology*. – 1986. – Vol. 58, N 3. – P. 417–420.
  53. *Teijaro J. R., Verhoeven D., Page C. A.* et al. Memory CD4 T-cells direct protective responses to influenza virus in the lungs through helper-independent mechanisms // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 84, N 18. – P. 9217–9226.
  54. *Throsby M., van den Brink E., Jongeneelen M.* et al. Heterosubtypic neutralizing monoclonal antibodies cross-protective against H5N1 and H1N1 recovered from human IgM+ memory B cells // *PLoS One*. – 2008. – Vol. 3, N 12. – P. e3942.
  55. *Thueng-in K., Maneewatch S., Srimanote P.* et al. Heterosubtypic immunity to influenza mediated by liposome adjuvanted H5N1 recombinant protein vaccines // *Vaccine*. – 2010. – Vol. 28, N 41. – P. 6765–6777.
  56. *Tompkins S. M., Zhao Z. S., Lo C. Y.* et al. Matrix protein 2 vaccination and protection against influenza viruses, including subtype H5N1 // *Emerg. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 13, N 3. – P. 426–435.
  57. *Topham D. J., Tripp R. A., Doherty P. C.* CD8+ T cell clear influenza virus by perforin or Fas-dependent processes // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 159, N 11. – P. 5197–5200.
  58. *Van Maurik A., Sabarth N., Dacho H. S.* et al. Seasonal influenza vaccine elicits heterosubtypic immunity against H5N1 that can be further boosted by H5N1 vaccination // *Vaccine*. – 2010. – Vol. 28, N 7. – P. 1778–1785.
  59. *Wang B. Z., Quan F. S., Kang S. M.* et al. Incorporation of membrane-anchored flagellin into influenza virus-like particles enhances the breadth of immune responses // *J. Virol.* – 2008. – Vol. 82, N 23. – P. 11813–11823.
  60. *Wu F., Yuan X. Y., Huang W. S., Chen Y. H.* Heterosubtypic protection conferred by combined vaccination with M2e peptide and split influenza vaccine // *Vaccine*. – 2009. – Vol. 27, N 43. – P. 6095–6101.
  61. *Yap K. L., Ada G. L., McKenzie I. F.* Transfer of specific cytotoxic T lymphocytes protects mice inoculated with influenza virus // *Nature*. – 1978. – Vol. 273, N 5659. – P. 238–239.
  62. *Yetter R. A., Barber W. H., Small P. A. Jr.* Heterotypic immunity to influenza in ferrets // *Infect. Immun.* – 1980. – Vol. 29, N 2. – P. 650–653.
  63. *Yetter R. A., Lehrner S., Ramphal R., Small P. A. Jr.* Outcome of influenza infection: effect of site of initial infection and heterotypic immunity // *Infect. Immun.* – 1980. – Vol. 29, N 2. – P. 654–662.
  64. *Yoshida R., Igarashi M., Ozaki H.* et al. Cross-protective potential of a novel monoclonal antibody directed against antigenic site B of the hemagglutinin of influenza A viruses // *PLoS Pathog.* – 2009. – Vol. 5, N 2. – P. e1000350.
  65. *Zhao G., Sun S., Du L.* et al. An H5N1 M2e-based multiple antigenic peptide vaccine confers heterosubtypic protection from lethal infection with pandemic 2009 H1N1 virus // *Virology*. – 2010. – Vol. 7, N 151. – P. 6305–6313.
  66. *Zweierink H. J., Courtneidge S. A., Skehel J. J.* et al. Cytotoxic T cells kill influenza virus infected cells but do not distinguish between serologically distinct type A viruses // *Nature*. – 1977. – Vol. 267, N 5609. – P. 354–356.

Поступила 10.06.11

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064]-036.1

*В. Ф. Еремин, Е. Л. Гасич, С. В. Сосинович*

### Новая уникальная рекомбинантная форма ВИЧ-1, выявленная в Беларуси

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии Минздрава Беларуси, Минск

Представлены данные о молекулярно-генетической характеристике новой рекомбинантной формы ВИЧ-1. Как показали проведенные исследования, вирус по гену *gag* был отнесен к субтипу В, а по генам *pol* и *env* – к субтипу А ВИЧ-1. При этом по гену *gag* новый изолят более близок к грузинскому изоляту ВИЧ-1 DQ207943, по гену *pol* – к изоляту AF413987.1 из Украины, а по гену *env* – к AY500393 из России. Таким образом, описанная новая рекомбинантная форма ВИЧ-1 имеет следующую структуру:  $B_{gag}A_{pol}A_{env}$ . Последовательности новой уникальной рекомбинантной формы ВИЧ-1 по генам *gag*, *pol* и *env* зарегистрированы в международной базе данных EMBL/Genbank/DBJ под номерами FR775442.1, FN995656.1, FR775443.1.

Ключевые слова: ВИЧ, субтипы, рекомбинантные формы, секвенирование

#### A new unique HIV-1 recombinant form detected in Belarus

*V. F. Eremin, E. L. Gasich, S. V. Sosinovich*

Republican Research-and-Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Belarus, Minsk

The paper presents data on the molecular genetic characteristics of a new HIV-1 recombinant form. The study has shown that the virus is referred to as HIV-1 subtype B in terms of the *gag* gene and HIV-1 subtype A in terms of the *pol* and *env* genes. At the same time the new isolate is closer, in terms of the *gag* gene, to the HIV-1 DQ207943 strain isolated in Georgia, in terms of the *pol* gene, to the HIV-1 AF413987.1 strain isolated in Ukraine and, in terms of the *env* gene to the HIV-1 AY500393 strain isolated in Russia. Thus, the described new HIV-1 recombinant form has the following structure:  $B_{gag}A_{pol}A_{env}$ .

The *gag*, *pol*, and *env* gene sequences from the new unique HIV-1 recombinant form have been registered in the international database EMBL/Genbank/DBJ under accession numbers FR775442.1, FN995656.1, and FR775443.1.

Key words: HIV, subtypes, recombinant forms, sequencing