

ся и проводятся научные конференции, симпозиумы, издается методическая литература.

На базе Института гриппа работает Комиссия Минздрава России по гриппозным вакцинным и диагностическим штаммам, которая ежегодно выработывает рекомендации по штаммовому составу сезонных вакцин для России.

Институт сотрудничает со многими ведущими научными и учебными заведениями России и зарубежных стран.

В настоящее время НИИ гриппа не только остается одним из ведущих вирусологических центров России, но и имеет прекрасные перспективы научного роста.

ОБЗОР

© О. И. КИСЕЛЕВ, 2012
УДК 618.3-06:616.921.5]-092:612.017.1]-008.64

О. И. Киселев

Иммunosuppression при беременности и грипп

ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург

В работе представлена гипотеза развития иммуносупрессии при беременности, объясняющая осложненный характер течения гриппа и других вирусных инфекций у беременных женщин. Гипотеза основана на том, что физиологическая иммуносупрессия у беременных вызвана подавлением активности различных субпопуляций Т-лимфоцитов с использованием уникального механизма: блокады димеризации ТсR-рецепторов через иммуносупрессивные домены плацентарных Синцитинов и вирусспецифических белков вирусов с высоким уровнем патогенности. У вирусов гриппа H5N1 и H1N1pdm09 выявлены гомологи иммуносупрессивных доменов онкогенных и эндогенных ретровирусов, вируса Эбола и других патогенных вирусов, вызывающих тяжелые формы инфекционных заболеваний. Синтетические пептиды – гомологи этих доменов подавляют антигениндуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов и образуют электростатические пары с трансмембранными доменами ТсR NKG2D.

Ключевые слова: *иммуносупрессия, беременность, грипп, вирусные инфекции*

Immunosuppression at Pregnancy and Flu

O. I. Kiselev

Federal State Research Institute of Influenza, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

The hypothesis of the development of immunosuppression at the pregnancy is put forward in this review. This hypothesis is explaining the complicated character of the pandemic H1N1pdm09 infection among pregnant women. Physiological immunosuppression at pregnancy is based on suppression of various T-lymphocyte subpopulations using a unique mechanism: dimerization blockade of TcR receptors by special domains known as immunosuppressive sequences. These protein sequences were recognized in placental Syntcytins and in proteins of pathogenic viruses, including Ebola virus and retroviruses. Among H5N1 and H1N1pdm09 influenza virus homologs of immunosuppressive domains are revealed and identified as the pathogenicity factors. Synthetic peptides, homologs of these domains, suppress an antigen-induced T-lymphocyte proliferation by inhibiting of TcR and NKG2D receptor activation. Integration of immunosuppressive domains into T-lymphocyte membrane leads to electrostatic pair formation and dimerization through interaction with transmembrane domains of TcR and NKG2D receptors.

Key words: *immunosuppression, pregnancy, influenza, virus infection*

В период пандемии гриппа 2009/10 беременные отнесли к наиболее приоритетным группам риска, так как грипп у них чаще протекает в тяжелой форме, а выбор средств лечения крайне ограничен. По итогам пандемии 2009/11, вызванной вирусом H1N1pdm09, характеризующимся повышенной патогенностью, частота осложненного гриппа среди беременных была существенно выше, чем среди пациентов этой же возрастной категории [1, 2]. Наиболее опасным осложнением гриппа при беременности остаются пневмония,

системное поражение органов и спонтанные аборт [1, 2]. Последствия для плода в зависимости от сроков беременности включают пороки развития, вероятность развития психических заболеваний и многие другие виды неонатальной патологии [3, 4]. По данным отечественных исследований [5, 6], при экспериментальной гриппозной инфекции в 30 раз возрастает частота гибели плода. При этом впервые установлено [6], что, кроме аномалий развития головного мозга, гриппозная инфекция вызывает у плода атрофию

Контактная информация:

Киселев Олег Иванович, д-р биол. наук, проф., акад. РАМН, e-mail: office@influenza.spb.ru

глазного яблока. На основании полученных данных авторы работы [6] предполагают, что ключевую роль в развитии аномалий плода играют цитотоксические Т-лимфоциты.

Вирусы гриппа – широкий спектр патогенности и быстрая эволюция

Подвижность генетических детерминант патогенности вирусов гриппа типа А не позволяет однозначно определить ключевые факторы патогенности. В качестве примера можно привести вирус H1N1pdm09, вызвавший скоротечную, но заметную пандемию гриппа в мире и нанесший существенный ущерб здоровью населения Российской Федерации [2]. Почти через столетие после пандемии “испанки” 1918 г. была установлена структура этого вируса, вызвавшего наиболее масштабную пандемию гриппа в мире [1]. Изучение основных генетических детерминант патогенности у вирусов H1N1-1918 не привело к расшифровке всех генетических признаков вирулентности. Загадкой осталась массовая смертность от пандемического гриппа беременных в этот период [3, 4]. Практически аналогичная ситуация повторялась в 1957 и 1968 гг. [4]. Масштабы смертности среди беременных в этот период были сравнимыми с наблюдавшимися в 1918–1919 гг. Несомненно, смертность от гриппа уже в период пандемии 2009–2011 г. была существенно ниже, но в ряде регионов России заболеваемость и смертность среди беременных была относительно высокой, что потребовало от медицинских работников значительных усилий по оказанию помощи беременным, больным гриппом [2].

Понимание природы высокой вирулентности пандемических вирусов гриппа в отношении беременных на уровне современных представлений позволяет подойти к реальным решениям в профилактике и лечении гриппа при иммуносупрессивных состояниях, характерных для беременности.

Поэтому в данной статье предпринимается попытка осмысления механизмов иммуносупрессии при беременности и роли гриппа в развитии тяжелых иммуносупрессивных состояний, приводящих при беременности к фатальным исходам пандемического гриппа.

“Синдром беременных при гриппе” следует квалифицировать как развитие инфекционного процесса на фоне острой иммуносупрессии. Очевидно, на физиологическую иммуносупрессию при беременности накладывается воздействие вирусов на иммунную систему. Более того, молниеносное течение гриппа в некоторых случаях у беременных напоминает по клинической картине, динамике развития осложнений и состоянию иммунной системы геморрагическую лихорадку Эбола, характеризующуюся особыми механизмами подавления иммунной системы хозяина [2, 7]. Анализ природы этих явлений приводит к неожиданным открытиям в понимании генетической природы контроля вынашивания плода и вмешательства в эти процессы экзогенных и эндогенных вирусов [8, 9].

Эндогенные ретровирусы и плацента

Открытие эндогенных ретровирусов в геноме животных и человека относится к одним из фундаментальных открытий XX столетия. Уже в XXI веке были расшифрованы геномы человека и шимпанзе. Парадокс строения генома человека состоит в избыточном

содержании последовательностей эндогенных ретровирусов [8]. Эволюционное значение этого явления находит объяснение в контроле репродуктивных функций животных и человека путем экспрессии этих генов при беременности [8, 9]. Данная функция непосредственно связана с так называемыми иммуносупрессивными доменами ретровирусных белков [10, 11]. Кроме того, концепция иммуносупрессии у беременных основана на понимании механизмов генерализации иммуносупрессии, сопутствующей беременности в связи с тканево-специфической экспрессией иммуносупрессивных элементов эндогенных ретровирусов плаценты [8, 9]. На рис. 1 (см. 2-ю полосу обложки) представлена экспрессия эндогенных ретровирусов в тканях животных и человека [9].

Как видно из рис. 1, высокий уровень экспрессии гена белка env/Синцитин эндогенного вируса HERV наблюдается только в плаценте [9]. Исключение составляют злокачественные опухоли преимущественно репродуктивной системы [8].

Структура генома ретровируса HERV (human endogenous retroviruses) включает гены gag, pol и env (рис. 2, см. 2-ю полосу обложки). Все гены необходимы для репликации (pol), образования вирусных частиц – капсидации (gag) и формирования белково-липидной оболочки (env). LTR – длинные концевые повторы – необходимы для интеграции и реинтеграции (см. рис. 2). Белок env HERV получил название Синцитина за его способность к образованию синцития и индукции дифференцировки цитотрофобластов в синцитиотрофобласты и по аналогии с ретровирусными белками – проявление иммуносупрессивных функций [9]. При ограничении образования синцитиальных структур плаценты происходит нарушение ее развития и становятся невозможными имплантация и вынашивание плода [9]. Таким образом, в процессе развития плаценты может происходить полноценная экспрессия ретровируса HERV [8, 9], обеспечивающая морфогенез плаценты, что одновременно сопровождается образованием интрацистеральных вирусных частиц, лишенных инфекционности (см. рис. 2).

Иммуносупрессивные домены вирусов и плаценты

Белок env/Синцитин ретровируса HERV, кроме функций слияния и синцитиообразования, обладает иммуносупрессивной активностью [9]. По центру трансмембранной части Синцитина локализуется так называемый иммуносупрессивный домен (ИСД) [11]. Впервые этот домен идентифицирован в виде пептида CSK-17 у ретровирусов животных [10]. Сердцевинный – коровый – домен этого белка отличается высокой гидрофобностью и обогащен остатками лейцина и представлен гексапептидом LDLLFL (ИСД), который в большинстве случаев фланкирован положительно заряженными аминокислотными остатками [10, 11]. Такая же закономерность выявляется при сравнительном анализе ИСД – последовательностей ретровирусов животных и человека [11]. На рис. 3 (см. 3-ю полосу обложки) представлены структуры ИСД ретровирусов в сравнении с иммуносупрессивным пептидом CSK-17 [10, 11]. Анализ структуры ИСД в широком ряду инфекционных и эндогенных ретровирусов свидетельствует о том, что их структура соответствует структурно-функциональной организации CD3-корцепторов, взаимодействующих

с трансмембранными фрагментами рецептора α TcR [12, 13]. Фактически Синцитины [8] и вирусные ИСД формируют доменные пары, обладающие способностью к электростатическому взаимодействию внутри мембран с коровыми трансмембранными доменами α TcR-рецепторов. Аналогичное взаимодействие установлено для корецепторов DAP с рецепторами NKG2D [12, 13]. С высокой вероятностью этот тип рецепторов является мишенью в процессе гриппозной инфекции, вызванной вирусом H1N1pdm09 [14].

Иммуносупрессия осуществляется путем трансмембранного взаимодействия с трансмембранными доменами α TcR-рецепторов, являющимися ключевыми факторами активации Т-лимфоцитов. Блокада их димеризации, необходимая для активации, является, вероятно, основным механизмом Т-клеточной иммуносупрессии [12, 13].

Белок NS1 – антагонист интерферонов и носитель иммуносупрессивного домена

Белок NS1 является мультифункциональным белком и среди клеточных белков имеет более 20 клеточных белков-партнеров, обеспечивающих реализацию его функциональной активности [15, 16]. Среди известных признаков патогенности белка NS1 наиболее важным является способность этого белка к подавлению функций интерферона [15, 16]. Вместе с тем очевидно, что интерфероны 1-го и 2-го типов являются только первым эшелонem противовирусной защиты [15, 16]. Более существенным фактором патогенеза пандемического гриппа может явиться носительство в белке NS1 иммуносупрессивного домена и подавление функций клеточного иммунного ответа в самом начале инфекции. Идентификация ИСД в белках NS1 вирусов гриппа H5N1 [15, 17] проясняет механизмы взаимодействия экзогенных вирусов гриппа с иммунной системой материнского организма при беременности.

TcR- и NKG2D-рецепторы – основные мишени иммуносупрессивных доменов

Исследование иммуносупрессивного действия синтетических пептидов – гомологов ИС-последовательностей в белке NS1 вирусов гриппа показало, что их действие на активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов не уступает активности пептида CSK-17 и Синцитинов [8–10, 15, 17]. Детальные исследования свидетельствуют о том, что на уровне белка NS1 может быть реализована модуляция иммуносупрессивной активности [15, 17]. Из этого следует, что белки вирусов гриппа с повышенной патогенностью могут оказывать иммуносупрессивное действие идентичного типа. В частности, это относится как к вирусам гриппа H1N1-1918, вызвавшим тяжелейшую пандемию “испанки”, так и к современному пандемическому H1N1pdm09 2009–2011 гг. [15, 17]. На рис. 4 (см. 3-ю полосу обложки) представлена карта белка NS1 вируса гриппа H1N1pdm09. Для сравнения приведены гомологи ИС-последовательностей у белка GP2 вируса Эбола и Синцитинов 1 и 2 плаценты [10, 11, 15, 17].

Обращает на себя внимание идентичность иммуносупрессивных последовательностей белка NS1 вируса гриппа H1N1pdm09 и последовательностей белков Синцитина 1 и 2 (см. рис. 4). Сходство структуры и

высокий уровень гомологии, а также функциональная активность белков вирусов гриппа, вирулентных ретровирусов и Синцитинов свидетельствуют о том, что данный механизм может носить универсальный характер в контроле функций Т-лимфоцитов при беременности и инфекциях, вызванных патогенными вирусами [9–11, 15, 17].

Таким образом, вероятными мишенями иммуносупрессивного действия вирусных и плацентарных иммуносупрессоров являются α TcR-рецепторы и их взаимодействие с сигнальными субъединицами корецепторов CD3 δ ϵ и γ . CD3 ζ также взаимодействует с FcR-рецепторами (рис. 5, см. 3-ю полосу обложки), что позволяет данный тип иммунорецепторов также отнести к потенциальным мишеням плацентарных иммуносупрессоров [12, 18, 19]. Вторыми по значимости мишенями плацентарных и вирусных иммуносупрессоров являются NKG2D-рецепторы, контролирующие активность NK-клеток [19]. Известно, что контроль развития плаценты и толерантности к антигенам плода в значительной степени связан с подавлением активности NK-клеток [9, 20].

До проведения данных исследований предпринимались попытки систематизации потенциальных иммуносупрессивных доменов у различных вирусов [20–22]. Наиболее широкий спектр доменов типа ИСД систематизирован в теоретических и экспериментальных исследованиях [11, 17, 20–22]. На основании принципов строения и функциональной активности иммуносупрессивных доменов вирусных белков, с одной стороны, и структуры и механизмов действия иммуносупрессивных доменов плацентарных Синцитинов и вирусных белков – с другой, можно сделать вывод о том, что этот класс иммуносупрессоров имеет идентичные мишени в иммунной системе человека и их сочетание способно вызывать неконтролируемую острую иммуносупрессию с блокадой презентации антигенов таких возбудителей, как вирусы гриппа, ЦМВ, вирус Эпштейна–Барр, и других широко распространенных патогенов [20]. Последствия таких воздействий на иммунную систему очевидны как для материнского организма, так и для плода [3–6, 8, 9, 20]. Анализ спектра и структуры иммунорецепторов высших животных, включая человека, позволяет сделать вывод о возможности существования общего механизма иммуносупрессии, направленного преимущественно на блокаду самосборки иммунорецепторов и, следовательно, их активации [22].

Более того, исследование транспорта иммуносупрессоров плаценты и вирусов показало, что их распространение за пределами плацентарного барьера или (у вирусов) за пределами пораженных тканей осуществляется экзосомами – эндосомальными везикулами, обеспечивающими активный транспорт и слияние с клетками-мишенями функционально активных белков [20, 23].

Дополнительный вклад вирусов в функциональную иммуносупрессию при беременности приводит к подавлению неспецифического и специфического иммунного ответа у беременных, что и является причиной осложненного развития пандемического гриппа у них во всех трех триместрах беременности.

Часть доказательств данной гипотезы уже получена в исследованиях структуры белков NS1 и NEP

вирусов гриппа, а также в результате тестирования гомологичных ИСД синтетических пептидов [17, 19, 20]. Для получения дальнейших доказательств роли ИС-доменов в патогенезе вирусных инфекций необходимы исследования по тестированию репертуара вирусспецифических лигандов на трансмембранные домены иммунорецепторов [20]. Полное изложение концепции представлено в отдельной монографии [20].

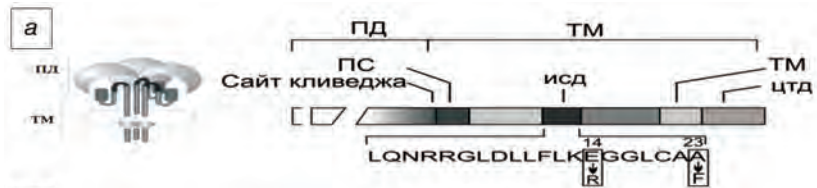
ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar A., Zarychanski R., Pinto R. et al. Critically ill patients with novel swine origin influenza virus A/H1N1 infection in Canada. J.A.M.A. 2009; 302: 1872–9.
2. Белокрыницкая Т. Е., Трубицина А. Ю., Мурикова Е. А. Грипп А/Н1N1, осложненный пневмониями, у беременных: течение беременности, исходы для матери и плода. В кн.: Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Итоги эпидемии гриппа А/Н1N1». Челябинск; 2011: 7–9.
3. Harris J. W. Influenza occurring in pregnant women. J.A.M.A. 1919; 72: 978–80.
4. McKinney Volkert P., Kaufman J. Fatal swine influenza pneumonia occurring during late pregnancy. Arch. Intern. Med. 1990; 150: 213–5.
5. Мирчинк Е. П., Зуев В. А., Мирошина Е. К. Медленная гриппозная инфекция, развивающаяся у потомства мышей в результате заражения самок в период беременности. Вопросы вирусологии. 1984; 1: 32–5.
6. Нефедова Н. Б., Гордеева М. С., Зуев В. А. Влияние материнских вирусспецифических Т-лимфоцитов на формирование патологии беременности и плодов при экспериментальной врожденной гриппозной инфекции. Вопросы вирусологии. 1990; 6: 456–8.
7. Mohamadzadeh M., Chen L., Schmaljohn A. L. How Ebola and Marburg viruses battle the immune system. Nat. Rev. Immunol. 2007; 7: 556–67.
8. Harris J. R. Placental endogenous retrovirus (ERV): structural, functional, and evolutionary significance. BioEssays. 1998; 20: 307–16.
9. Muir A., Lever A., Moffett A. Expression and function of human endogenous retroviruses in the placenta: an update. Placenta. 2004; 25: S16–S25.
10. Cianciolo G., Copeland T. D., Orozlan S., Snyderman R. Inhibition of lymphocyte proliferation by a synthetic peptide homologous to retroviral envelope proteins. Science. 1985; 230: 453–5.
11. Blinov V.M. «Dormant» immunosuppressive domains (ISD) in filoviruses: activation of «Dormant» filoviruses by endogenous retroviruses. <http://www.vector.nsc.ru/conf0999/posters/blinov/blinov.htm>.
12. Call M. E., Pyrdol J., Wiedmann M., Wucherpfennig K. W. The organizing principle in the formation of the T cell receptor-CD3 complex. Cell. 2002; 111: 967–79.
13. Call M. E., Wucherpfennig K. W., Chou J. The structural intramembrane assembly of an activating immunoreceptor complex. Nat. Immunol. 2010; 11: 1023–29.
14. Achdout H., Menigher T., Hirsh S. et al. Killing of avian and swine influenza virus by natural killer cells. J. Virol. 2010; 84: 3993–4001.
15. Киселев О. И. Геном пандемического вируса гриппа А/Н1N1v-2009. СПб, М.: Компания «Димитрейд График Групп®»; 2011.
16. Das K., Ma L.-C., Xiao R. et al. Structural basis for suppression by influenza A virus of a host antiviral response. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008; 105: 13 093–8.
17. Kiselev O. I., Blinov V. M., Pisareva M. et al. Genomic structure of highly pathogenic influenza H5N1 virus. Identification of Ebola-like immunosuppressive domain in NS2 protein. In: Katz J. M., ed. Options for the Control of influenza VI: Proceedings of the International conference on options for the control of influenza VI. Toronto, Ontario, Canada. June 17–23, 2007. Toronto; 2007: 252–3.
18. Kuhns M. S., Davis M. M., Garcia K. C. Deconstructing the form and function of the TcR/CD3 complex. Immunity. 2006; 24: 133–9.
19. Guo H., Kumar P., Malarkannan S. Evasion of natural killer cells by influenza virus A. J. Leukocyte Biol. 2011; 89: 189–94.
20. Киселев О. И. Беременность, иммуносупрессия, грипп и плацентарная экспрессия эндогенных ретровирусов. СПб: Росток; 2012. 220 с.
21. Sigalov A. New therapeutic strategies targeting transmembrane signal transduction in the immune system. Cell Adh. Migr. 2010; 4: 255–67.
22. Sigalov A. B. Novel mechanistic insights into viral modulation of immune receptor signaling. PLoS Pathog. 2009; 5 (7): e1000404. doi: 10.1371/journal.ppat.1000404.
23. Hedlund M., Stenqvist A. C., Nagaeva O., Kjellberg L., Wulff M., Baranov V., Mincheva-Nilsson L. Human placenta expresses and secretes NKG2D ligands via exosomes that down-modulate the cognate receptor expression: evidence for immunosuppressive function. J. Immunol. 2009; 183: 340–51.

Поступила 31.05.12

Рис. 3. Первичная структура иммуносупрессивных доменов ретровирусов животных и человека [8, 11].

a – модель третичной структуры белка env/Синцитина и физическая карта иммуносупрессивного домена Синцитина 2; *б* – первичная структура коровых иммуносупрессивных доменов ретровирусов, включая эндогенные ретровирусы (HERV); *в* – выравнивание ИС-последовательности эндогенных Синцитинов мышей и человека (HERV-W [NP 055405], HERV-FRD [AAH68585]) в сравнении с вирусами Эбола и ВИЧ-1, SIV-1.



б

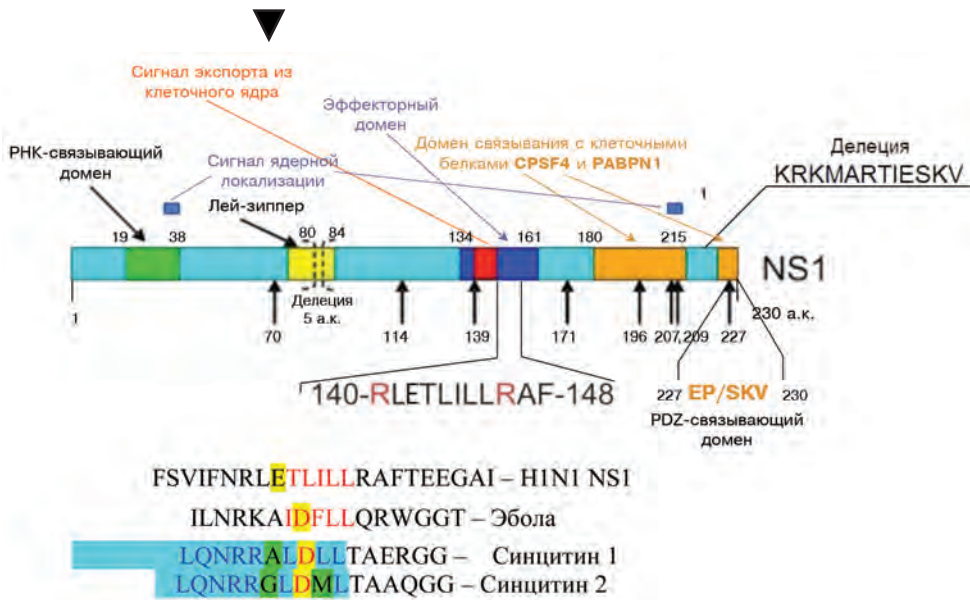
FeL.Vp15E	QNRRLDILFLQEGGL
HTLV-1/2gp21eE	QNRRLDILFLQEGGL
ERV3 Env	QNRRLDYLLAQEEGV
HERV-W Env	LQNRRLDILFLTAERGG
• CSK-17	LQNRRLDILFLKEGGL

в

		ИСД
• mSyncytin-A [AAW62446]	VVLQNRRLDILFL	VAERGG
• mSyncytin-B [AAW62450]	VVLQNRRLDILFL	TAERGG
• HERV-W [NP_055405]	VVLQNRRLDILFL	TAERGG
• HERV-FRD [AAH68585]	VVLQNRRLDILFL	TAAQGG
• MoMLV [AAB59943]	VVLQNRRLDILFL	FLKEGG
• XMRV_VP35 [ABB83226]	VVLQNRRLDILFL	FLKEGG
• HTLV [ENV_HT11C]	YAAQNRRLDILFL	FWEQGG
• ZEBOV [AAC54887]	FSILNRKALDILFL	LQRWGG
• HIV-1 [AAB50262]	VER--YLK--DQQL	LGIWG--
• SIV [AAC57057]	LEK--YLE--DQTR	INLWG--

Рис.4 Иммуносупрессивные домены белка NS1 вируса гриппа H5N1 и H1N1pdm09 [10, 11, 15, 17].

Обозначение аминокислот представлено в однобуквенном коде. Положения мутации в белке NS1 вируса H5N1 (А/Курган/04/05/) обозначены стрелками, делеция С-концевого PDZ-связывающего домена в положениях 219–230 – KRKMARTIESKV. В области 80–84 обозначена делеция в белке NS1 вируса H5N1. Функциональная роль доменов выделена на рисунке. В последовательностях иммуносупрессивных доменов желтым цветом выделены отрицательно заряженные домены глутаминовой (E) и аспарагиновой (D) кислот. N-концевой РНК-связывающий домен, сигналы ядерной локализации обозначены прямоугольниками, выделенными синим цветом вверху карты.



TcRα CP- коровый пептид GLR⁺ ILLLVK

	Stalk region	TM region
CD3 ε	LYLRARVVCENCMEMDMVMSVATIVIVD	ICITGGLLLLIVYYWSKN
CD3 γ	LQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVS	SIFVLAVGVYFIAGQ
CD3 δ	VQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTD	VIATLLLLALGVFCFAGH
Consensus	RXCXXCXE	

Рис. 5. Иммунорецепторы – основные мишени плацентарных и инфекционных иммуносупрессоров [9, 18, 21].

Пояснения и обозначения рецепторов представлены на рис. 4. В экстремальной высокоэкспонированной части обозначены переменные домены рецепторов. S-S-связи доменов фиксированы перед мембраной, а в трансмембранной области – альфа-спирали димеризующихся доменов. В пределах мембран градиентом сине-фиолетового цвета обозначено электростатическое притяжение трансмембранных доменов. Точками красного и синего цвета обозначены противоположные заряды электростатического взаимодействия доменов [18, 21].

