

ОБЗОРЫ

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-84>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022



Современные представления о роли гена X вируса гепатита В (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) в патогенезе инфекции, вызванной вирусом гепатита В

Панасюк Я.В.¹, Власенко Н.В.¹, Чурилова Н.С.¹, Клушкина В.В.¹, Дубоделов Д.В.¹, Кудрявцева Е.Н.¹, Корабельникова М.И.¹, Родионова З.С.¹, Семенов Т.А.², Кузин С.Н.¹, Акимкин В.Г.¹

¹ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 111123, Москва, Россия;

²ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия

В обзоре представлена информация о роли X гена вируса гепатита В (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) (ВГВ) и кодируемого им белка X в патогенезе вирусного гепатита В (ГВ). Рассмотрена эволюция возбудителя от первоосновы до современного варианта гепаднавирусов (*Hepadnaviridae*) как процесс, начавшийся около 407 млн лет назад и продолжающийся до настоящего времени. Обобщены результаты научных трудов зарубежных исследователей о многообразии воздействия белка X на течение инфекционного процесса и роли этой вирусной структуры в механизмах канцерогенеза. Описаны различия в характере влияния белка на течение заболевания у пациентов различных этнических групп с учётом генотипической принадлежности ВГВ. Обсуждается значение определения генетической вариативности гена X как фундаментальной характеристики вируса, имеющей значение для оценки рисков распространения гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) среди населения Российской Федерации.

Ключевые слова: вирус гепатита В (ВГВ); ген X; белок X; канцерогенез; гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК); обзор

Для цитирования: Панасюк Я.В., Власенко Н.В., Чурилова Н.С., Клушкина В.В., Дубоделов Д.В., Кудрявцева Е.Н., Корабельникова М.И., Родионова З.С., Семенов Т.А., Кузин С.Н., Акимкин В.Г. Современные представления о роли гена X вируса гепатита В (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) в патогенезе инфекции, вызванной вирусом гепатита В. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(1): 7-17.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-84>

Для корреспонденции: Панасюк Я.В., врач-эпидемиолог лаборатории вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии, ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 111123, Москва, Россия. E-mail: epidbsmp@mail.ru

Участие авторов. Все авторы внесли равный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт государственного бюджета.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.10.2021
Принята в печать 24.11.2021
Опубликована 28.02.2022

REVIEW ARTICLE

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-84>

Modern views on the role of X gene of the hepatitis B virus (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) in the pathogenesis of the infection it causes

Yarina V. Panasiuk¹, Natalia V. Vlasenko¹, Nadezhda S. Churilova¹, Vitalina V. Klushkina¹, Dmitry V. Dubodelov¹, Elena N. Kudryavtseva¹, Marina I. Korabelnikova¹, Zinaida S. Rodionova¹, Tatiana A. Semenenko², Stanislav N. Kuzin¹, Vasily G. Akimkin¹

¹FSBI «Central Research Institute for Epidemiology» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor) Moscow, 111123, Russia;

²FSBI «National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia

The review presents information on the role of hepatitis B virus (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) (HBV) X gene and the protein it encodes (X protein) in the pathogenesis of viral hepatitis B. The evolution of HBV from primordial to the modern version of hepadnaviruses (*Hepadnaviridae*), is outlined as a process that began about 407 million years ago and continues to the present. The results of scientific works of foreign researchers on the variety of the influence of X protein on the infectious process and its role in the mechanisms of carcinogenesis are summarized. The differences in the effect of the X protein on the course of the disease in patients of different ethnic groups with regard to HBV genotypes are described. The significance of determining the genetic variability of X gene as a fundamental characteristic of the virus that has significance for the assessment of risks of hepatocellular carcinoma (HCC) spread among the population of the Russian Federation is discussed.

Key words: *hepatitis B virus (HBV); gene X; protein X; carcinogenesis; hepatocellular carcinoma (HCC); review*

For citation: Panasiuk Ya.V., Vlasenko N.V., Churilova N.S., Klushkina V.V., Dubodelov D.V., Kudryavtseva E.N., Korabelnikova M.I., Rodionova Z.S., Semenenko T.A., Kuzin S.N., Akimkin V.G. Modern views on the role of X gene of the hepatitis B virus (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) in the pathogenesis of the infection it causes. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(1): 7-17.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-84>

For correspondence: Panasiuk Ya.V., Physician-Epidemiologist of the Viral Hepatitis Laboratory, Department of Molecular Diagnostics and Epidemiology, FSBI «Central Research Institute for Epidemiology» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor) Moscow, 111123, Russia. E-mail: epidbsmp@mail.ru

Information about the authors:

Panasiuk Ya.V., <https://orcid.org/0000-0002-9335-4953>

Vlasenko N.V., <https://orcid.org/0000-0002-2388-1483>

Churilova N.S., <https://orcid.org/0000-0001-5344-5829>

Klushkina V.V., <https://orcid.org/0000-0001-8311-8204>

Dubodelov D.V., <https://orcid.org/0000-0003-3093-5731>

Kudryavtseva E.N., <https://orcid.org/0000-0002-7325-8577>

Korabelnikova M.I., <https://orcid.org/0000-0002-2575-8569>

Rodionova Z.S., <https://orcid.org/0000-0003-0401-279X>

Semenenko T.A., <https://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Kuzin S.N., <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>

Akimkin V.G., <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Contribution. All of the authors made an equal contribution to the research and analysis and to the preparation of the article, and read and approved the final version before publication

Funding. The research was funded by the State budget.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Received 12 October 2021

Accepted 24 November 2021

Published 28 February 2022

Введение

Вирусный гепатит В (ГВ) до настоящего времени остаётся глобальной проблемой мирового здравоохранения, что обусловлено значительным ущербом

здоровью населения многих стран мира и большим количеством летальных исходов непосредственно от этого заболевания, а также от связанных с ним

цирроза печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Последняя является одним из наиболее тяжёлых осложнений ГВ [1]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), от ГВ ежегодно умирают 820 тыс. человек, из них более 650 тыс. от ЦП или ГЦК и около 130 тыс. – от острого ГВ [1, 3]. Сейчас 296 млн жителей планеты живут с хронической ВГВ-инфекцией и ежегодно инфицируются ещё 1,5 млн человек. По показателю летальности среди онкологических заболеваний в мире ГЦК занимает 3 место [2]. На сегодняшний день после первичного выявления ГЦК средняя продолжительность жизни не превышает 11 мес., а 5-летняя выживаемость составляет лишь 6,9% [3].

Развитие рака печени при хроническом гепатите В (ХГВ) с учётом крайне неблагоприятного прогноза и значительного распространения обоих заболеваний во многих странах предопределило большое внимание учёных к этой проблеме. Как показали результаты многих выполненных к настоящему моменту исследований, феномен канцерогенеза при ВГВ-инфекции обусловлен свойствами и взаимодействиями белков, кодируемых генами вируса, главным образом – взаимодействием белка X с генами-мишенями и белками клетки организма хозяина. Определение роли гена X и кодируемого им одноимённого белка в патологическом процессе, инициированном ВГВ, – одно из ведущих исследовательских направлений, реализуемых в различных странах [9–17]. Известные на сегодняшний день аминокислотные замены в X-белке детерминируют появление новых воздействий вируса на гепатоциты, не свойственных его дикому варианту, таких как инициация канцерогенеза, геномная нестабильность, формирование раковых стволовых клеток, активация репликации вируса иммунодефицита человека (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus*) (ВИЧ), ускоренное развитие канцерогенеза при микст-инфекции ХГВ и хронического вирусного гепатита С (ХГС), а также суперинфекция вирусом гепатита D (дельта) (ВГД) [9, 10, 13, 16–18].

Цель данного обзора – представление актуальной информации и обобщение результатов исследований по определению роли гена X ВГВ и кодируемого им белка в патогенезе ГВ.

Эволюция вируса гепатита В

Фундаментальные исследования, посвящённые происхождению ВГВ, привели к весьма интересным результатам, которые объясняют многие свойства вируса. Его археологический возраст определён в результате выделения этого патогена из 400-летних мумий, найденных на территории Кореи и Италии [4]. Геном ВГВ также секвенирован из останков скелетов возрастом 7 тыс. лет в Евразии [4]. В ходе проведённого скрининга вирусы семейства *Hepadnaviridae* идентифицированы у ряда различных представителей животного мира, включая обезьян-капуцинов (*Cebus*) Южной Америки, рыбу-синюгу (синца) (*Ballerus ballerus*) Северной Америки, саргана (*Ablennes*

hians) Восточного моря, австралийского окуня (латеса) (*Lates calcarifer*), тибетской лягушки (*Nanorana parkeri*), африканской цихлиды (*Cichlidae*), а также 2 видов ящериц (*Lacertilia*) [4].

Идентификация интегрированных в зародышевую линию гепаднавирусов у некоторых птиц (*Aves*) и рептилий (*Reptilia*), проведённая А. Suh и соавт., указывает на очень древнее происхождение этого семейства, прототип которого сформировался более 200 млн лет назад, что соответствует триасовому периоду мезозойской эры [21, 22]. Интеграция ДНК вируса в геном зародышевой линии птиц, вставка эндогенного вирусного элемента (еВГВ), свидетельствующая о преодолении межвидового барьера с переходом на птиц, произошла от 77 до 90 млн лет назад (меловой период мезозоя). Выстроенная Р. Revill и соавт. [4] эволюционная модель предполагает, что структурными предшественниками будущего гепаднавируса предположительно стали ретроэлементы геномов насекомых (*Insecta*), послужившие первоосновой гена полимеразы ВГВ [5]. В ходе дальнейшего эволюционного процесса этот вирус приобрёл ген *core* что подтверждено в исследовании С. Lauber и соавт. [38]. По мнению авторов работы, основанной на филогенетическом анализе и предположительной дате разделения гепаднавируса рыб (*Pisces*) (общий предок) на гепаднавирус лучепёрых (*Actinopterygii*) и лопастепёрых (*Sarcopterygii*) рыб, эволюция гепаднавируса началась свыше 437 млн лет назад, что соответствует ордовикскому периоду палеозойской эры. Ген S, также ответственный за гепатотропность вируса, сформировался в ходе его эволюционного развития в организме птиц [23, 24]. Согласно данным А. Suh и соавт. [21, 22] и F.J. van Hemert и соавт. [12], при очередном преодолении межвидового барьера (переходе от птиц к млекопитающим (*Mammalia*)), осуществлённом 25–10 тыс. лет назад, гепаднавирус приобрёл новый ген X, кодирующий соответствующий белок.

Следует отметить, что своим регуляторным функциям данный ген, вероятно, во многом обязан своему происхождению. Существует 2 теории формирования гена X. Одна из теорий описана в работе F.J. van Hemert и соавт. [12] выявили сходство белка X с ферментом клетки человека тимин-ДНК-гликозилазой (*thymine-DNA glycosylase, TDG*) – одним из ключевых участников эксцизионной репарации нуклеотидов. Авторы предположили, что ген X сформировался посредством того, что в ходе эволюции гепаднавирус «захватил» соответствующую последовательность из генома организма хозяина примерно 10 тыс. лет назад. Согласно точке зрения исследователей, ингибирование белком X инициированной TDG эксцизионной репарации нуклеотидов клеточной ДНК может быть связано с происхождением этой белковой структуры от указанного клеточного фермента. Другая теория формирования гена X предложена А. Suh и соавт. [21, 22]. В соответствии с их предположениями образование X-подобной открытой рамки считывания (*open reading frame, ORF*) могло произойти в про-

цессе эволюции путём сегментарного дублирования прекорового/корового (*precore/core*) гена ORF и последующего перекрытия части генома. Эта гипотеза базируется на том, что в геноме вирусов рода *Avihepadnaviridae* перекрываются ORF генов полимеразы и *precore/core*.

Столь продолжительная эволюция ВГВ предопределила его широкое представительство в животном мире. Принципиальным отличием *Orthohepadnaviridae* от *Avihepadnaviridae* является отсутствие у последних полноценного X-гена, и тот факт, что возникновение ГЦК в естественных условиях зафиксировано исключительно у млекопитающих, связывают с наличием гена X и активностью кодируемого им белка [16]. Вместе с тем S.F. Chang и соавт. [16] сообщили в 2001 г. об обнаружении X-подобной ORF в геноме ВГВ, инфицирующего уток (*Anatinae*), что позволило высказать предположение о продолжающейся до настоящего времени эволюции ВГВ. Результаты изучения происхождения и эволюционного развития этого вируса объяснили такие его характеристики, как значительную распространённость у разных видов животных, появление новых рекомбинантов, существование в организме в форме квазивидовой популяции и полиорганный пораженный организм хозяина, а также раскрыли причины резистентности возбудителя к противовирусной терапии.

Строение гена X вируса гепатита В

В геноме ВГВ ген X занимает позиции с 1374 по 1838 п.н. [17, 19, 20]. В то же время, по мнению A. González и соавт., к зоне данного гена следует

отнести и сайт инициации транскрипции, представляющий собой некодирующую последовательность в области от 1255 до 1374 п.н. [19]. Важной характеристикой генома ВГВ является его компактизация. Ген X частично перекрывается с геном полимеразы на участке 1374–1621 п.н., а также с *precore/core* геном в позициях 1814–1838 п.н. [17, 19, 20]. Схема организации гена X (1374–1838 п.н.), в которую включён также сайт инициации его транскрипции (1171–1361 п.н.), представлена на рисунке [20, 21].

Сайт инициации транскрипции гена X (некодирующий участок), как и его кодирующая зона (1374–1838 п.н.), содержат гиперконсервативные участки, расположенные в позициях с 1255 по 1286 и с 1563 по 1602 п.н. [19]. Наличие в области данного гена перекрывающихся последовательностей генов полимеразы, *precore/core* гена, а также многих регуляторных некодирующих последовательностей, значимых для репликации и транскрипции вирусного генома, делает эту его часть потенциально важной мишенью для терапии [19].

Структура и функции белка X вируса гепатита В

Транслируемый X-геном белок состоит из 154 а.о., имеет молекулярную массу 17 кДа и обладает транскрипционной и трансактиваторной активностью отдельных клеточных и вирусных промоторов. Структура белка X включает 2 домена: N-концевой, кодируемый 5'-областью X-гена с 1374 по 1523 п.н. (1–50 а.о.), и C-концевой, кодируемый 3'-областью с 1524 по 1838 п.н. (51–155 а.о.). Первый из них опосредует проапоптотическую функцию, в то вре-

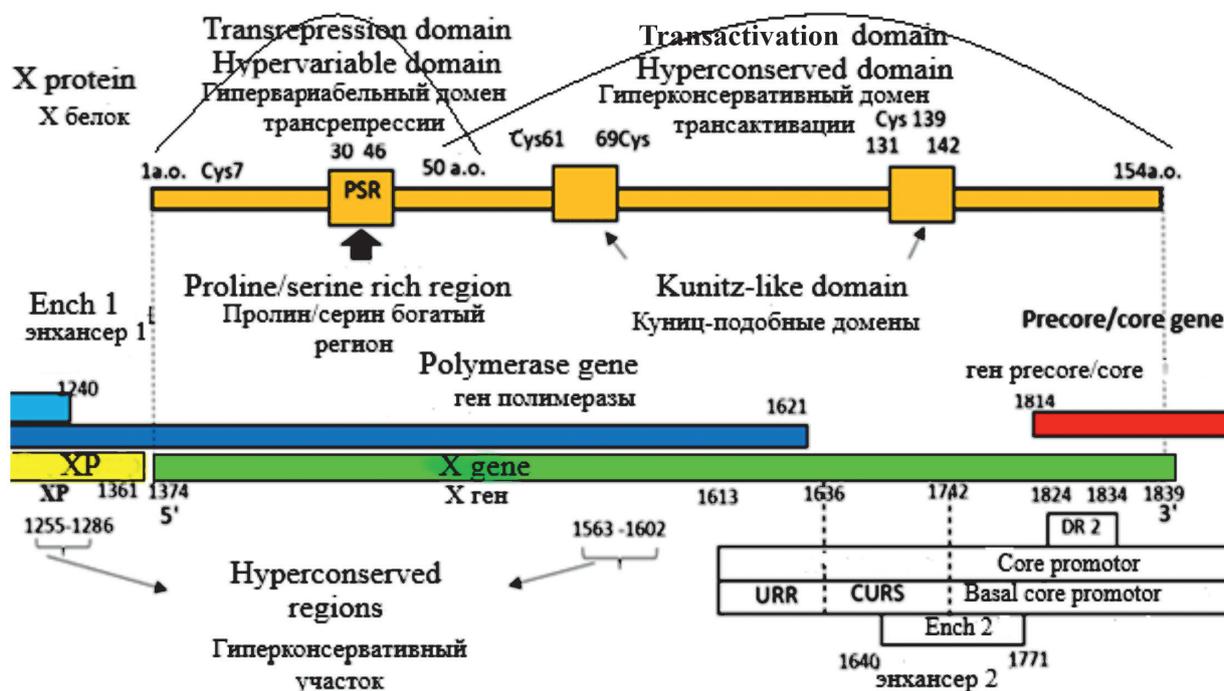


Рис. Строение гена X и транслируемого им белка X вируса гепатита В.
Fig. The structure of X gene and translated X protein of the hepatitis B virus.

мя как С-концевой ответственной за процессы трансактивации [20]. В последнее время установлено, что N-концевой домен белка по сравнению с С-концевым более вариабелен, что обусловлено наличием в последнем 3 из 4 консервативных остатков аминокислот [19, 40, 49]. При этом вариабельность доменов зависит от генотипа ВГВ. В N-концевом домене больше переменных аминокислотных позиций (6, 12, 26, 30, 38, 40, 42), чем в С-концевом (78, 91, 101, 102, 118, 119) [49]. В области более консервативного С-концевого домена белка находится также Куниц-подобный (Kunitz-like) домен, расположенный в 2 разъединённых позициях – с 61 по 69 и со 131 по 142 а.о. Он обладает способностью ингибировать функцию некоторых клеточных протеаз [19]. С. Prieto и соавт. [72] показали, что процесс димеризации белка X обусловлен наличием в его составе участка, богатого серином (Ser, S) и пролином (Pro, P).

Белок X, как хорошо известно сегодня, плейотропен; его влияние на инфекционный процесс весьма многообразно. W.-K. Sung и соавт. [11] определили 184 гена-мишени и 144 фактора транскрипции, с которыми может взаимодействовать данная белковая структура, однако не все эти взаимодействия к настоящему времени изучены. Плейотропность белка X зависит от его локализации (в ядре клетки или в субклеточном пространстве), определяющей взаимодействие с ядерными и цитоплазматическими факторами [42, 43]. По данным M.J. Bouchard и соавт. [13], D. Когнеуев и соавт. [43], этот белок, находясь в ядре и цитоскелете, существует около 3 ч, в цитозоле – от 15 до 20 мин. Результаты исследований L. Belloni и соавт. [42] свидетельствуют о том, что ядерная локализация белка X приводит к активации им клеточных протоонкогенов. В свою очередь, A. Ali и соавт. [44] в обзорной статье привели тот факт, что локализация белка в ядре связана с вставкой в позиции 204 нуклеотидной последовательности. При внутриядерном расположении белок X участвует в регуляции транскрипции вирусного и клеточного геномов, а также реализует свой онкогенный потенциал, регулируя экспрессию генов хозяина, взаимодействуя с компонентами базального аппарата транскрипции (RPB5, TFIIB, TBP), а также специфическими транскрипционными факторами [44]. Находясь же в цитоплазме, данный протеин ассоциируется с внешней мембраной митохондрий, изменяя проводимость анионного мембранного канала, что впоследствии ведёт к модулированию апоптоза [13, 42, 43].

Главная функция белка X – регулирование экспрессии генов вируса и клеточного генома – опосредуется несколькими механизмами: разрушением комплекса структурного поддержания хромосом Smc5/6 (в гепатоците выполняет функцию рестрикции вирусных факторов) и модификатора хроматина SETDB1, препятствующего транскрипции вирусного генома; использованием клеточных эпигенетических механизмов; активацией протоонкогенов клетки [42, 45, 48]. Высказана точка зрения о том, что способность раз-

рушать Smc5/6 приобретена белком в процессе преодоления межвидового барьера от птиц к млекопитающим и, возможно, её следует рассматривать как основную функцию этой белковой структуры [46, 47]. L. Belloni и соавт. [42] установили, что взаимодействие белка X с ацетилтрансферазами (CBP, p300, PCAF) приводит к ацетилированию клеточного и вирусного геномов, а также к активации протоонкогенов клетки и процесса транскрипции ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК) вируса. Функция опосредования белком X гиперметилирования промоторов генов-супрессоров клеточных опухолей реализуется благодаря активации им группы ферментов – ДНК-метилтрансфераз DNMT1, DNMT3A1 и DNMT3A2, в результате чего подавляется транскрипция ряда опухолевых супрессоров в клетке.

Белок X способен также активировать транскрипцию клеточных протоонкогенов и генома вируса, взаимодействуя с компонентами основного транскрипционного комплекса РНК-полимеразы II (RPB5, TFIIB, TFIIN) и специфическими факторами транскрипции (ATF/CREB, ATF3, c/EBP, NF-IL-6, Ets, Egr, SMAD4, Oct1, RXR-рецептором, p53).

Показано, что фосфорилирование Ser в позициях 155, 162 и 170 белка core запускается при участии белка X и является необходимым для поэтапной инкапсидации вирусного генома с образованием полукольцевой ДНК, способной к дальнейшей репликации. Таким образом была определена роль этого белкового образования в репликации генома ВГВ [71].

Механизмы канцерогенеза при вирусном гепатите В, ассоциированные с функционированием белка X

К настоящему времени доказана патогенетическая связь белка X и ГЦК, которая реализуется несколькими путями: посредством интеграции вирусного генома в клеточный, активации протоонкогенов, а также гиперметилирования генов-супрессоров опухолей [42, 45, 48]. В 2006 г. открыт ещё один эффект прямого канцерогенного воздействия, заключающийся в инициации некоторыми белками генома ВГВ образования раковых стволовых клеток (РСК) [62].

F. Su и соавт. [50] описали механизм канцерогенеза, связанный с проапоптотической активностью белка X. Согласно представлению исследователей, в инициации канцерогенной активности могут принимать участие не только белок X, имеющий увеличенный трансформационный потенциал как результат мутаций в нём, но и изменённые варианты данного белка с ингибированной трансформационной активностью за счёт активации проапоптотического домена [13, 50]. По мнению авторов, различные вариации изменённых белков существуют одновременно в форме квазивидов [13, 18, 50]. В экспериментах показано, что реализация проапоптотической активности белка X, проявляющаяся при ингибировании С-концевого домена (ответственного за трансформационную активность и взаимодействие белка с фактором некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF-α))

приводит к активации апоптоза и естественному выживанию неопластических гепатоцитов. Последние, в свою очередь, интенсивно синтезируют митогенные ростовые факторы. Активность проапоптотической функции белка X дикого варианта вируса способствует распространению возбудителя в пределах поражённой печени. При апоптозе гепатоцитов резко возрастает продукция факторов роста печёночных клеток, которые усиливают регенерацию органа, создавая условия для диссеминации ВГВ в новые инфицированные гепатоциты [50].

Один из основных аспектов канцерогенного действия связан со способностью ВГВ интегрироваться в геном клетки организма хозяина [44, 46]. D.A. Shafritz, M.C. Kew [52] в числе первых описали взаимосвязь между такой способностью и злокачественной клеточной трансформацией. Последующие работы, выполненные различными научными группами, позволили выявить несколько опосредующих канцерогенез эффектов, ассоциированных с феноменом интеграции ВГВ. Среди них цис-опосредованный инсерционный мутагенез генов вируса и клетки хозяина; индукция хромосомной нестабильности за счёт интегрированной ДНК; экспрессия мутантных генов ВГВ из устойчивой интегрированной формы [51, 53, 54]. Результаты исследований показали, что интеграция вирусного генома в клеточный геном происходит в ранние сроки с момента инфицирования. В частности, экспериментально подтверждено, что первое слияние обоих геномов осуществляется в течение первых 30 мин после инфицирования. Сравнение частоты интеграции в поражённые ГЦК и здоровые гепатоциты продемонстрировало, что в опухолевой ткани встраивание более часто осуществляется в кодирующие геномные участки, тогда как в интактных клетках отмечена интеграция в интроны. Изменённый белок X увеличивает количество сайтов и частоту интеграционных событий посредством инициации путей передачи сигналов, направленных на повреждение генома клетки.

Интеграция в кодирующие участки приводит к экспрессии химерных онкогенных белков, при этом независимо от локализации инсерционных последовательностей отмечено усиление экспрессии клеточных генов, в которые встроились фрагменты ВГВ. Встраивание вируса в геном клеток опухолевой ткани (в отличие от здоровых гепатоцитов) происходит в повторяющиеся участки генома, результатом чего становится транскрипционная активность протоонкогенов. В ходе проведенных исследований установлено, что частота интеграционных событий коррелирует с прогрессированием и более тяжёлым течением ГВ, а также с развитием ГЦК в молодом возрасте минуя цирротическую стадию. Кроме того, продемонстрировано, что подобная интеграция имеет место как при хроническом, так и при остром течении ГВ независимо от возраста пациента [51, 53, 54].

Процесс интеграции вирусного генома сопровождается его фрагментацией, в результате чего гены X и S оказываются способными к экспрессии, нахо-

дясь рядом со своими промоторами, а гены *core* и *Pol* по причине удалённости от таковых экспрессироваться не могут [51, 53, 54]. Показано, что при встраивании гена X происходит его фрагментация с множественными разрывами нуклеотидной последовательности. Наиболее ранними сайтами интеграции ВГВ в геном человека являются ретротранспозоны SINE, THE-1B-LTR, MER-5B и LINE-2. Интеграция в ретротранспозоны может иметь результатом распространение вирусных инсерций по геному с последующим развитием ГЦК. Доказана также возможность встраивания геномных фрагментов вируса в протоонкогены: NBPF-1, PRR-16, PRKG-1, RunX1, hAT-18, DNTNP, PEB-4, FAM90, PCDH-15, lncRNA, C14orf29, а также гены, кодирующие обратную транскриптазу теломеразы человека (hTERT), миелоидного лейкоза смешанного происхождения 4 (MLL4) и ген, кодирующий циклин e1 (CCNE1) [51, 53, 54].

Важным фактором ВГВ-ассоциированного канцерогенеза служат РСК. В ряде экспериментов продемонстрирована способность белков вируса индуцировать формирование таких клеток, для которых характерны самообновление и дифференцировка по всем присутствующим в опухоли малигнизированным клеточным линиям [59–61]. В частности, установлено, что белок X активирует митогенные сигнальные каскады посредством взаимодействия с транскрипционными факторами NF-κB, AP-1, AP-2, c-EBP и ATF/CREB, что ведёт к появлению РСК. В этих же экспериментах авторы показали, что интеграция гена X и образование белка X с делецией карбокси-конца иницируют факторы транскрипции плюрипотентных стволовых клеток линий Oct4, Nanog, Klf4 – потенциальных предшественников именно РСК, а также маркеры последних, такие как EpCAM и β-катенин. Утративший карбокси-конец X-белок способен также инициировать образование подмножества маркеров CD133 указанных клеток [66–68]. CD133, известный также как AC133 или проминин-1, является антигеном клеточной поверхности РСК и в медицинской практике служит диагностическим маркером, свидетельствующим о наличии у пациента РСК и высокой вероятности формирования новообразования ряда локализаций. Его также выделяют из опухолей различных органов, включая головной мозг, толстую кишку, поджелудочную железу, простату, лёгкие и печень [83]. Положительный результат определения CD133 указывает на наличие у пациента РСК и имеет важное значение в диагностике ГЦК [59–63]. Изучение свойств ГЦК свидетельствует о том, что экспрессирующие CD133 клеточные элементы обладают более высоким пролиферативным потенциалом, чем клетки, не имеющие этого маркера [62, 63]. Помимо этого, обнаружено, что присутствие CD133 придаёт раковым клеткам устойчивость к химическому и радиоактивному воздействию, апоптозу, а также указывает на более интенсивное развитие химио- и радиоустойчивости опухоли Согласно данным Z. Li [63], цитоплазматическая экспрессия CD133 кор-

релирует с прогрессирующим течением опухолевого процесса, тогда как ядерная ассоциирована с более постепенным развитием ГЦК.

Связь нуклеотидных замен в гене *X* и аминокислотных замен в белке *X* с реализацией механизмов канцерогенеза при вирусном гепатите В

Большое внимание уделяется проблеме влияния замен в гене *X* и кодируемом им белке на канцерогенный потенциал ВГВ. К настоящему времени выполнен ряд исследований, результаты которых указывают на значительную роль как одиночных нуклеотидных/аминокислотных замен, так и их сочетаний, при которых может формироваться синергизм. Это, в свою очередь, обуславливает более быстрое прогрессирование патологического процесса при ГВ до ЦП и ГЦК. Авторы отметили вариативность сценариев развития вызываемой ВГВ инфекции у пациентов различных этнических групп [8, 11, 16].

На сегодняшний день к наиболее изученным следует отнести 2 двойные замены 1762Т/1764А и 1764Т/1766G, а также одиночную замену 1758С [20]. Как показали Н. Kim и соавт. [20], наличие двойной замены 1762Т/1764А в гене *X* ведёт ещё к 3 смысловым нуклеотидным заменам – G1386А/С, С1653Т, Т1753V и, соответственно, к аминокислотным заменам V5M/L, H94Y, I127V в *X*-белке. Кроме того, двойная замена 1762Т/1764А часто сочетается с делецией в области С-концевого домена этого белка. Указанная двойная замена, по мнению многих исследователей, не ассоциируется с какой-либо этнической группой и повсеместно распространена у пациентов с ГЦК [8, 10–13, 16, 17, 35].

Особый интерес представляет обнаружение R. Salpini и соавт. [15] аминокислотной замены F30V в высококонсервативной области N-концевого домена белка *X*. Авторы связывают её наличие с угнетением апоптоза повреждённых клеточных элементов, что создаёт условия для развития ГЦК посредством сохранения и накопления клеток с повреждениями в геноме. Тем не менее охарактеризованная замена не связана с ускорением клеточного цикла. Малигнизация и последующее развитие ГЦК при ГВ, вызванном вирусом с изменённым белком *X*, согласно мнению исследователей, осуществляются посредством 2 независимых путей, которые могут быть реализованы одновременно, поскольку ВГВ в инфицированном организме существует, как правило, в различных генетических вариациях или, как описано выше, в квазивидах. Таким образом, один путь канцерогенеза, связанный с *X*-белком с активированным трансформационным доменом, обеспечивает клеточную опухолевую трансформацию, тогда как другой механизм, ассоциированный с этим же проапоптотически активным белком, способствует отбору неопластических клеток, продуцирующих митогенные факторы роста [5, 15, 44].

В настоящее время в научной печати появляется всё больше сообщений о том, что ВГВ способен иници-

ировать раковое поражение не только ткани печени, но и других органов, таких как поджелудочная железа, желудок, слизистая оболочка полости рта, толстая кишка. Следует отметить, что онкогенез внепечёночной локализации, по представлениям ряда авторов, связан со свойством белка *X* влиять на транскрипцию протоонкогенов клетки человека [55–58]. Работы по изучению ГВ-ассоциированных новообразований в основном посвящены таким нозологическим формам, как рак желудка и неходжкинская лимфома. Доказательством участия ВГВ в формировании рака желудка, согласно мнению P. Niedźwiedzka-Rystwej и соавт. [57], служит значительно большее количество белка *X* в опухолевой ткани органа по сравнению со здоровой.

Отдельного внимания заслуживает сообщение Н. Kim и соавт. [67] о выявлении делеции в *X*-белке в позициях с 127 по 134 а.о., ассоциированной с пониженной его секрецией и замедлением сборки вирионов. Как полагают исследователи, наличие данного генетического изменения может обусловить развитие скрытого течения ВГВ-инфекции у вакцинированных лиц. В ряде работ выявлена зависимость тяжести течения заболевания и его исхода от генотипической характеристики вируса, причём важным фактором является также этническая принадлежность больных. Так, при обследовании когорты пациентов в Северной Индии установлено, что инфицирование ВГВ генотипа А чаще приводит к хроническому ГВ, тогда как для аналогичной группы исследуемых в Испании, инфицированных этим же генотипом, зафиксирована высокая частота спонтанного вирусного клиренса [5, 6, 66]. Кроме того, имеются данные об «этнической» специфичности отдельных замен в гене *X* и транслируемом им белке ВГВ. Согласно А. Tuteja и соавт. [6], для населения Северной Индии в качестве специфичных для белка *X* отмечены следующие аминокислотные замены: V37L, L98С, E126R, V133Y, A144H, P145Q. В рамках ещё одного выполненного на территории Индии исследования к специфичным отнесены другие 5 замен аминокислот – L37I, S46P, H86P/R, L98I, T105A [70]. Специфические нуклеотидные замены обнаружены также при обследовании лиц с ГЦК в Китае и Японии, для которой расценены как связанные с этнической принадлежностью 6 замен нуклеотидов в гене *X* (1485Т, 1653Т, 1470А, 1479А, 1575G, 1719G) [64]. В обзоре W. Li и соавт. [68], посвящённом анализу генетической вариативности этого гена у пациентов из Японии и Китая с ХГВ, отмечены 5 специфических, по мнению авторов, нуклеотидных замен: 1383С, 1485Т, 1631Т, 1719Т и 1800С.

Большого внимания заслуживает также сообщение А. Tuteja и соавт. [6] относительно обнаружения межгенотипического рекомбинанта ВГВ А/Д, у которого ген *X* соответствовал генотипу Д, в то время как остальной геном – генотипу А. Исследователи считают, что такая генетическая рекомбинация ВГВ детерминирует более высокую канцерогенность и снижает эффективность применяемых противовирусных препаратов.

Необходимо отдельно отметить сложности, сопутствующие изучению влияния отдельных замен в нуклеотидной последовательности *X*-гена. Имеющиеся проблемы связаны с наличием перекрывающихся последовательностей этого гена и базового (основного, минимального) корового промотора (basal core promoter, ВСП). Изучение генетической вариабельности гена *X* связано с необходимостью проведения генетической диссекции, поскольку замены в перекрывающейся последовательности приводят к мутациям областей в данном гене и ВСП [65]. Последний является регуляторной последовательностью вирусного генома, инициирующей транскрипцию прекоровой (precore) и прегеномной РНК (пгРНК). В рамках определения влияния замены в *X*-гене на усиление синтеза пгРНК, и, следовательно, репликации генома ВГВ, осуществлена диссекция ВСП и гена *X*. Это позволило установить, что усиление репликации вирус-

ного генома опосредовано изменением ВСП, а не гена *X* [65].

Обобщённые результаты поиска в литературе информации о нуклеотидных заменах в гене *X* и аминокислотных заменах в кодируемом им белке, ассоциированных с развитием ГЦК, представлены в **таблице**.

Влияние белка X на течение и исходы вирусного гепатита В при дельта-инфекции и микст-инфекции с вирусом иммунодефицита человека

Изучение эволюции инфекционного процесса, вызванного ВГВ и ВГД, позволило как при ко-, так и при суперинфекции выявить закономерное снижение репликации ДНК первого из них [10]. Авторы данного исследования, выполненного на группе пациентов в Испании, объясняют подобный эффект взаимодействием клеточной РНК-полимеразы II, необходи-

Таблица. Нуклеотидные замены в гене X и аминокислотные замены в белке X, описанные в литературе

Table. Nucleotide substitutions in X gene and amino acid substitutions in X protein available in the publications

Нуклеотидные замены в гене X Nucleotide substitutions in X gene	Аминокислотные замены в белке X Amino acid substitutions in X protein	Этническая принадлежность пациента Patient ethnicity	Источник References
1762 (T), 1764 (A)	K130M/V131I	Корея, Саудовская Аравия, Китай Korea, Saudi Arabia, China	[44]
G1386A/C	V5M/L	Корея, Китай Korea, China	[20]
C1653T	H94Y	Корея, Китай, Япония Korea, China, Japan	[20]
T1753V	I127V	Китай China	[20]
	X8Del	Корея Korea	[20]
	I127T/K130M/V131L	Саудовская Аравия Saudi Arabia	[13]
	K130M/V131I/ F132Y	Саудовская Аравия Saudi Arabia	[13]
G1727, C1741, C1761, T1773, T1773/G1775, T1673/G1679, A1757/T1764/G1766	F30V	Саудовская Аравия Saudi Arabia	[13]
1485T, 1653T, 1470A, 1479A, 1575G, 1719G		Франция, Италия France, Italy	[15]
T1674C/G, T1753V, T1768A, C1773T		Япония Japan	[20]
A1383C, C1485T, C1631T, G1719T, T1800C		Китай China	[20]
	V37L, L98C, E126R, V133Y, A144H, P145Q	Япония, Китай, Корея Japan, China, Korea	[20]
	L37I, S46P, H86P/R, L98I, T105A	Северная Индия Northern India	[6]
		Индонезия Indonesia	[70]
Вставка 204AGGCC в сочетании с заменами G260A и G/C/T 264A Insert 204AGGCC in combination with G260A and G/C/T264A replacements		–	[44]
	Делеция 14 аминокислот в COOH-домене Deletion of 14 amino acids in the COOH domain	–	[44]

Примечание. «←» – отсутствие данных.

Note. «←», no data available.

мой для репликации генома ВГВ, с антигеном ВГД L-HDAg (так называемым большим – *англ.* large), а также активацией клеточного противовирусного белка МхА. L-HDAg, воздействуя на энхансер 2 ВГВ, индуцирует нуклеотидные замены в гене *X*, которые, транслируясь на белок *X*, ингибируют процесс репликации генома ВГВ. В качестве общей закономерности исследователи отмечают, что при дельта-инфекции возрастает общее количество нуклеотидных замен в геноме ВГВ. Важно отметить, что при вирусном гепатите D нуклеотидные замены локализируются в области 1255–1611 п.н., частично включающей сайт инициации транскрипции гена *X* и непосредственно этот ген. Согласно точке зрения авторов, повышенная генетическая вариабельность указанного региона генома ВГВ связана с влиянием врождённого иммунитета и/или взаимодействием L-HDAg с РНК-полимеразой II. В работе Т. Goto и соавт. [73], также посвящённой взаимодействию L-HDAg ВГД с *X*-белком, показана активация клеточных белков – трансформирующего фактора роста бета (transforming growth factor beta, TGF-β) и активирующего белка 1 (транскрипционного фактора) (activating protein 1, AP-1). Эти белки выполняют роль регуляторов пролиферации, клеточной дифференцировки и других процессов, связываясь с белками SMAD3 и STAT3, а также иницируя сигнальный путь *c-Jun*, который активирует скрытую форму TGF-β, и непосредственно фосфорилирующего SMAD3. Совокупность этих процессов ведёт к усилению трансляции профибротических молекул. Результатом описанных взаимодействий, по представлению авторов исследования, является развитие у пациентов фиброза печени. Кроме того, взаимодействие L-HDAg ВГД и белка *X* приводит к активации клеточного фактора SRF который является важным промотормым и регуляторным элементом, обуславливающим увеличение продукции ростовых факторов и белков протоонкогенов.

Нынешнюю эпидемиологическую ситуацию по ГВ и ВИЧ-инфекции в мире специалисты характеризуют как эпидемию с перманентно возрастающим числом вовлечённых лиц. При общности путей передачи обоих возбудителей в настоящее время часто регистрируются микст-инфекции ГВ + ВИЧ. Важно отметить, что к настоящему моменту доказано взаимовлияние этих заболеваний, включающее роль белка *X* в изменении течения ВИЧ-инфекции. Как продемонстрировали М. Gómez-Gonzalo и соавт. [18], при ГВ/ВИЧ-микст-инфекции происходит блокада клеточных белков APOBEC3G, обладающих противовирусным эффектом, с последующей активацией репликации РНК ВИЧ. В основе этого эффекта лежит способность белка *X* индуцировать непрерывную репликацию генома ВИЧ-1 и транскрипцию длинных концевых повторов (long terminal repeats, LTRs) РНК данного вируса посредством взаимодействия с его белком Tat и сигналами активации Т-клеток. Активация репликации генома ВИЧ-1 происходит в результате связывания белка *X* с сайтом Sp1 LTRs ВИЧ-1 и при взаимодействии белков *X* ВГВ и Tat ВИЧ-1.

Процесс репликации последнего инициируется также посредством активации *X*-белком семейства клеточных протеинов NF-κB и NF-AT. Показано, что способность активировать репликацию РНК ВИЧ-1 связана с заменами в С-концевом домене *X*-белка, локализованными в пределах от 57 до 104 а.о.

Заключение

Выполненный обзор научных публикаций, затрагивающих вопросы определения воздействия гена *X* и транслируемого им белка на течение ВГВ-инфекции, позволяет констатировать, что с этими структурами связаны 3 основных направления влияния, каждое из которых характеризуется многообразием используемых механизмов. Во-первых, ген *X* обеспечивает интеграцию ВГВ в геном клетки хозяина. Во-вторых, белок *X* с помощью прямых и опосредованных механизмов регулирует транскрипцию ДНК ВГВ. В-третьих, этот белок является главным фактором, иницирующим множество механизмов канцерогенеза. Как показывает анализ литературы, большое внимание специалисты уделяют изучению влияния различных нуклеотидных замен в гене *X* и соответствующих им аминокислотных замен в одноимённом белке на течение вызываемой ВГВ инфекции и развитие таких её осложнений, как ЦП и ГЦК.

Обращает на себя внимание существенное преобладание работ по данной тематике, выполненных в таких странах, как КНР, Республика Корея, Япония, Индия, что можно объяснить крайне высокой актуальностью проблемы ГВ для этих стран. В Российской Федерации данные о генетической вариабельности отдельных генов ВГВ практически отсутствуют, за исключением отдельных работ, посвящённых определению гетерогенности гена *S* и транслируемого им белка. Принимая во внимание то обстоятельство, что этническая принадлежность пациентов, как это следует из приведённых выше публикаций, является важным фактором, влияющим на развитие индуцированного ВГВ инфекционного процесса и его осложнений, становится очевидной необходимость проведения таких исследований в РФ с учётом многонационального характера её населения.

Результаты определения генетической вариабельности ВГВ имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Новая информация о генетическом многообразии ВГВ и вызываемых ими вариантах течения ВГВ-инфекции весьма важна с точки зрения оценки и прогноза общей эпидемиологической ситуации, а также определения эффективности противоэпидемических мероприятий в стране исследования. Определение замен в отдельных генах вируса может быть использовано для формирования персонализированного подхода к тактике ведения пациентов. Необходимо подчеркнуть, что критический дефицит подобной информации в отечественной научно-медицинской практике существенно ограничивает имеющиеся современные представления о масштабности проблем, связанных с ГВ, и диктует необходимость дальнейших научных изысканий.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- WHO. Hepatitis B: Fact sheet. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b> (accessed November 29, 2021).
- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2020; 71(3): 209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Ющук Н.Д., Климова Е.А., Знойко О.О., Кареткина Г.Н., Максимов С.Л., Маев И.В. *Вирусные гепатиты: клиника, диагностика, лечение*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014.
Yushchuk N.D., Klimova E.A., Znoyko O.O., Karetkina G.N., Maksimov S.L., Maev I.V. *Viral Hepatitis: Clinic, Diagnosis, Treatment [Virusnye gepatity: klinika, diagnostika, lechenie]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2014 (in Russian).
- Revell P.A., Tu T., Netter H.J., Yuen L.K.W., Locarnini S.A., Littlejohn M. The evolution and clinical impact of hepatitis B virus genome diversity. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 17(10): 618–34. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0296-6>
- Datta S. An overview of molecular epidemiology of hepatitis B virus (HBV) in India. *Virol. J.* 2008; 5: 156. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-5-156>
- Tuteja A., Siddiqui A.B., Madan K., Goyal R., Shalimar, Sreenivas V., et al. Mutation profiling of the hepatitis B virus strains circulating in North Indian population. *PLoS One.* 2014; 9(3): e91150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091150>
- Tarocchi M., Polvani S., Marroncin G., Galli A. Molecular mechanism of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(33): 11630–40. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i33.11630>
- Levrero M., Zucman-Rossi J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* 2016; 64(1 Suppl.): S84–101. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.021>
- Lau K.C.K., Burak K.W., Coffin C.S. Impact of hepatitis B virus genetic variation, integration, and lymphotropism in antiviral treatment and oncogenesis. *Microorganisms.* 2020; 8(10): 1470. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101470>
- Godoy C., Taberner D., Sopena S., Gregori J., Cortese M.F., González C., et al. Characterization of hepatitis B virus X gene quasiespecies complexity in mono-infection and hepatitis delta virus superinfection. *World J. Gastroenterol.* 2019; 25(13): 1566–79. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i13.1566>
- Sung W.K., Lu Y., Lee C.W.H., Zhang D., Ronaghi M., Lee C.G.L. Deregulated direct targets of the hepatitis B virus (HBV) protein, HBx, identified through chromatin immunoprecipitation and expression microarray profiling. *J. Biol. Chem.* 2009; 284(33): 21941–54. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.014563>
- van Hemert F.J., van de Klundert M.A.A., Lukashov V.V., Kootstra N.A., Berkhout B., Zaaijer H.L., et al. Protein X of hepatitis B virus: origin and structure similarity with the central domain of DNA glycosylase. *PLoS One.* 2011; 6(8): e23392. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023392>
- Al-Qahtani A.A., Al-Anazi M.R., Nazir N., Ghai R., Abdo A.A., Sanaï F.M., et al. Hepatitis B virus (HBV) X gene mutations and their association with liver disease progression in HBV-infected patients. *Oncotarget.* 2017; 8(62): 105115–25. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22428>
- Rahmani Z., Huh K.W., Lasher R., Siddiqui A. Hepatitis B virus X protein colocalizes to mitochondria with a human voltage-dependent anion channel, HVDAC3, and alters its transmembrane potential. *J. Virol.* 2000; 74(6): 2840–6. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.6.2840-2846.2000>
- Salpini R., Surdo M., Cortese M.F., Palumbo G.A., Carioti L., Cappiello G., et al. The novel HBx mutation F30V correlates with hepatocellular carcinoma *in vivo*, reduces hepatitis B virus replicative efficiency and enhances anti-apoptotic activity of HBx N terminus *in vitro*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 25(7): 906.e1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.11.017>
- Chang S.F., Netter H.J., Hildt E., Schuster R., Schaefer S., Hsu Y.C., et al. Duck hepatitis B virus expresses a regulatory HBx-like protein from a hidden open reading frame. *J. Virol.* 2001; 75(1): 161–70. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.1.161-170.2001>
- Bouchard M.J., Schneider R.J. The enigmatic X gene of hepatitis B virus. *J. Virol.* 2004; 78(23): 12725–34. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.23.12725-12734.2004>
- Gómez-Gonzalo M., Carretero M., Rullas J., Lara-Pezzi E., Aramburu J., Berkhout B., et al. The hepatitis B virus X protein induces HIV-1 replication and transcription in synergy with T-cell activation signals: functional roles of NF-κB/NF-AT and SP1-binding sites in the HIV-1 long terminal repeat promoter. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(38): 35435–43. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103020200>
- González C., Taberner D., Cortese M.F., Gregori J., Casillas R., Riveiro-Barciela M., et al. Detection of hyper-conserved regions in hepatitis B virus X gene potentially useful for gene therapy. *World J. Gastroenterol.* 2018; 24(19): 2095–107. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i19.2095>
- Kim H., Lee S.A., Kim B.J. X region mutations of hepatitis B virus related to clinical severity. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(24): 5467–78. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i24.5467>
- Sunzález C., Brosius J., Schmitz J., Krieger M.F., Gregori J. The genome of a Mesozoic paleovirus reveals the evolution of hepatitis B viruses. *Nat. Commun.* 2013; 4: 1791. <https://doi.org/10.1038/ncomms2798>
- Suh A., Weber C.C., Kehlmaier C., Braun E.L., Green R.E., Fritz U., et al. Early Mesozoic Coexistence of Amniotes and Hepadnaviridae. *PLoS Genet.* 2014; 10(12): e1004559. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004559>
- Lauber C., Seitz S., Mattei S., Suh A., Beck J., Herstein J., et al. Deciphering the origin and evolution of hepatitis B viruses by means of a family of non-enveloped fish viruses. *Cell Host Microbe.* 2017; 22(3): 387–99.e6. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.07.0192>
- Pesavento P.A., Jackson K., Scase T., Tse T., Hampson B., Munday J.S., et al. A novel hepadnavirus is associated with chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma in cats. *Viruses.* 2019; 11(10): 969. <https://doi.org/10.3390/v11100969>
- Bonvicino C.R., Moreira M.A., Soares M.A. Hepatitis B virus lineages in mammalian hosts: potential for bidirectional cross-species transmission. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(24): 7665–74. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i24.7665>
- Hu X., Javadian A., Gagneux P., Robertson B.H. Paired chimpanzee hepatitis B virus (ChHBV) and mtDNA sequences suggest different ChHBV genetic variants are found in geographically distinct chimpanzee subspecies. *Virus. Res.* 2001; 79(1-2): 103–8. [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(01\)00334-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(01)00334-3)
- He B., Fan Q., Yang F., Hu T., Qiu W., Feng Y., et al. Hepatitis virus in long-fingered bats, Myanmar. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(4): 638–40. <https://doi.org/10.3201/eid1904.121655>
- Li W., She R., Liu L., You H., Yin J. Prevalence of a virus similar to human hepatitis B virus in swine. *Virol. J.* 2010; 7: 60. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-60>
- Sa-Nguanmoo P., Rianthavorn P., Amornsawadwattana S., Poovorawan Y. Hepatitis B virus infection in non-human primates. *Acta Virol.* 2009; 53(2): 73–82. https://doi.org/10.4149/av_2009_02_73
- Lanford R.E., Chavez D., Brasky K.M., Burns R.B. III, Rico-Hesse R. Isolation of a hepadnavirus from the woolly monkey, a New World primate. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998; 95(10): 5757–61. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.10.5757>
- Tian J., Xia K., She R., Li W., Ding Y., Wang J., et al. Detection of Hepatitis B virus in serum and liver of chickens. *Virol. J.* 2012; 9: 2. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-2>
- Summers J., Smolec J.M., Snyder R. A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1978; 75(9): 4533–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.9.4533>
- Mason W.S., Seal G., Summers J. Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. *J. Virol.* 1980; 36(3): 829–36. <https://doi.org/10.1128/JVI.36.3.829-836.1980>
- Sprengel R., Kaleta E.F., Will H. Isolation and characterization of a hepatitis B virus endemic in herons. *J. Virol.* 1988; 62(10): 3832–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.62.10.3832-3839.1988>
- Chang S.F., Netter H.J., Bruns M., Schneider R., Frölich K., Will H. A new avian hepadnavirus infecting snow geese (*Anser caerulescens*) produces a significant fraction of virions containing single-stranded DNA. *Virology.* 1999; 262(1): 39–54. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9844>
- Pult I., Netter H.J., Bruns M., Prassolov A., Sirma H., Hohenberg H., et al. Identification and analysis of a new hepadnavirus in white storks. *Virology.* 2001; 289(1): 114–28. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1115>

37. Prassolov A., Hohenberg H., Kalinina T., Schneider C., Cova L., Krone O., et al. New hepatitis B virus of cranes that has an unexpected broad host range. *J. Virol.* 2003; 77(3): 1964–76. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.3.1964-1976.2003>
38. Lauber C., Seitz S., Mattei S., Suh A., Beck J., Herstein J., et al. Deciphering the origin and evolution of hepatitis B viruses by means of a family of non-enveloped fish viruses. *Cell Host Microbe.* 2017; 22(3): 387–99.e6. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.07.0192>
39. Meier A., Mehrle S., Weiss T.S., Mier W., Urban S. Myristoylated PreS1-domain of the hepatitis B virus L-protein mediates specific binding to differentiated hepatocytes. *Hepatology.* 2013; 58(1): 31–42. <https://doi.org/10.1002/hep.26181>
40. Kumar V., Jayasuryan N., Kumar R. A truncated mutant (residues 58–140) of the hepatitis B virus X protein retains transactivation function. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1996; 93(11): 5647–52. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.11.5647>
41. Qadri I., Maguire H.F., Siddiqui A. Hepatitis B virus transactivator protein X interacts with the TATA-binding protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1995; 92(4): 1003–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.4.1003>
42. Belloni L., Pollicino T., De Nicola F., Guerrieri F., Raffa G., Fanciulli M., et al. Nuclear HBx binds the HBV minichromosome and modifies the epigenetic regulation of cccDNA function. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2009; 106(47): 19975–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908365106>
43. Kornyevev D., Ramakrishnan D., Voitenleitner C., Livingston C.M., Xing W., Hung M., et al. Spatiotemporal analysis of hepatitis B virus X protein in primary human hepatocytes. *J. Virol.* 2019; 93(16): e00248-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.00248-19>
44. Ali A., Abdel-Hafiz H., Suhail M., Al-Mars A., Zakaria M.K., Fatima K., et al. Hepatitis B virus, HBx mutants and their role in hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(30): 10238–48. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i30.10238>
45. Taylor E.M., Moghraby J.S., Lees J.H., Smit B., Moens P.B., Lehmann A.R. Characterization of a novel human SMC heterodimer homologous to the *Schizosaccharomyces pombe* Rad18/Spr18 complex. *Mol. Biol. Cell.* 2001; 12(6): 1583–94. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.6.1583>
46. Murphy C.M., Xu Y., Li F., Nio K., Reszka-Blanco N., Li X., et al. Hepatitis B virus X protein promotes degradation of SMC5/6 to enhance HBV replication. *Cell Rep.* 2016; 16(11): 2846–54. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.08.026>
47. Abdul F., Filleton F., Gerossier L., Paturel A., Hall J., Strubin M., et al. Smc5/6 Antagonism by HBx Is an Evolutionarily Conserved Function of Hepatitis B Virus Infection in Mammals. *J. Virol.* 2018; 92(16): e00769-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00769-18>
48. Rivière L., Gerossier L., Ducroux A., Dion S., Deng Q., Michel M.L., et al. HBx relieves chromatin-mediated transcriptional repression of hepatitis B viral cccDNA involving SETDB1 histone methyltransferase. *J. Hepatol.* 2015; 63(5): 1093–102. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.06.023>
49. Datta S., Banerjee A., Chandra P.K., Biswas A., Panigrahi R., Mahapatra P.K., et al. Analysis of hepatitis B virus X gene phylogeny, genetic variability and its impact on pathogenesis: Implications in Eastern Indian HBV carriers. *Virology.* 2008; 382(2): 190–8. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.09.007>
50. Su F., Schneider R.J. Hepatitis B virus HBx protein sensitizes cells to apoptotic killing by tumor necrosis factor alpha. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1997; 94(16): 8744–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.16.8744>
51. Sung W.K. Genome-wide survey of recurrent HBV integration in hepatocellular carcinoma. *Nat. Genet.* 2012; 44(7): 765–9. <https://doi.org/10.1038/ng.2295>
52. Shafritz D.A., Kew M.C. Identification of integrated hepatitis B virus DNA sequences in human hepatocellular carcinomas. *Hepatology.* 1981; 1(1): 1–8. <https://doi.org/10.1002/hep.1840010102>
53. Chauhan R., Michalak T.I. Earliest hepatitis B virus-hepatocyte genome integration: sites, mechanism, and significance in carcinogenesis. *Hepatoma Res.* 2021; 7: 20. <http://doi.org/10.20517/2394-5079.2020.136>
54. Zhang X., You X., Li N., Zhang W., Gagos S., Wang Q. Involvement of hepatitis B virus X gene (HBx) integration in hepatocarcinogenesis via a recombination of HBx/Alu core sequence/subtelomeric DNA. *FEBS Lett.* 2012; 586(19): 3215–21. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.06.039>
55. Wang Y., Wang H., Pan S., Hu T., Shen J., Zheng H., et al. Capable infection of hepatitis B virus in diffuse large B-cell lymphoma. *J. Cancer.* 2018; 9(9): 1575–81. <https://doi.org/10.7150/jca.24384>
56. Baghbanian M., Hoseini Mousa S.A., Doosti M., Moghimi M. Association between gastric pathology and hepatitis B virus infection in patients with or without *Helicobacter pylori*. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2019; 20(7): 2177–80. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.7.2177>
57. Niedzwiedzka-Rystwej P., Grywalska E., Hryniewicz R., Wołaczewicz M., Becht R., Roliński J. The double-edged sword role of viruses in gastric cancer. *Cancers (Basel).* 2020; 12(6): 1680. <https://doi.org/10.3390/cancers12061680>
58. Tagieva N.E., Gizatullin R.Z., Zakharyev V.M., Kisselev L.L. A genome-integrated hepatitis B virus DNA in human neuroblastoma. *Gene.* 1995; 152(2): 277–8. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(94\)00665-f](https://doi.org/10.1016/0378-1119(94)00665-f)
59. Schulte L.A., López-Gil J.C., Sainz B. Jr., Hermann P.C. The cancer stem cell in hepatocellular carcinoma. *Cancers (Basel).* 2020; 12(3): 684. <https://doi.org/10.3390/cancers12030684>
60. Sukowati C.H.C., Reyes P.A.C., Tell G., Tiribelli C. Oncogenicity of viral hepatitis B and C in the initiation of hepatic cancer stem cells. *Hepatoma Res.* 2019; 5: 2. <https://doi.org/10.20517/2394-5079.2018.106>
61. Mani S.K.K., Andrisani O. Hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma and hepatic cancer stem cells. *Genes (Basel).* 2018; 9(3): 137. <https://doi.org/10.3390/genes9030137>
62. Suetsugu A., Nagaki M., Aoki H., Motohashi T., Kunisada T., Moriwaki H. Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 351(4): 820–4. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.10.128>
63. Li Z. CD133: a stem cell biomarker and beyond. *Exp. Hematol. Oncol.* 2013; 2(1): 17. <https://doi.org/10.1186/2162-3619-2-17>
64. Hagiwara S., Nishida N., Park A., Kameda Y., Sakurai T., Watanabe T., et al. Contribution of C1485T mutation in the HBx gene to human and murine hepatocarcinogenesis. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 10440. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10570-0>
65. Hussain Z., Jung H.S., Ryu D.K., Ryu W.S. Genetic dissection of naturally occurring basal core promoter mutations of hepatitis B virus reveals a silent phenotype in the overlapping X gene. *J. Gen. Virol.* 2009; 90(Pt. 9): 2272–81. <https://doi.org/10.1099/vir.0.010421-0>
66. Sánchez-Tapias J.M., Costa J., Mas A., Bruguera M., Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology.* 2002; 123(6): 184–56. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.37041>
67. Kim H., Gong J.R., Lee S.A., Kim B.J. Discovery of a novel mutation (X8Del) resulting in an 8-bp deletion in the hepatitis B virus X gene associated with occult infection in Korean vaccinated individuals. *PLoS One.* 2015; 10(10): e0139551. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139551>
68. Li W., Goto K., Matsubara Y., Ito S., Muroyama R., Li Q., et al. The characteristic changes in hepatitis B virus X region for hepatocellular carcinoma: a comprehensive analysis based on global data. *PLoS One.* 2015; 10(5): e0125555. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125555>
69. Kurbanov F., Tanaka Y., Fujiwara K., Sugauchi F., Mbanya D., Zekeng L., et al. A new subtype (subgenotype) Ac (A3) of hepatitis B virus and recombination between genotypes A and E in Cameroon. *J. Gen. Virol.* 2005; 86(Pt. 7): 2047–56. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80922-0>
70. Wungu C.D.K., Amin M., Ruslan S.E.N., Purwono P.B., Kholili U., Maimunah U., et al. Association between host TNF- α , TGF- β 1, p53 polymorphisms, HBV X gene mutation, HBV viral load and the progression of HBV-associated chronic liver disease in Indonesian patients. *Biomed. Rep.* 2019; 11(4): 145–53. <https://doi.org/10.3892/br.2019.1239>
71. Melegari M., Wolf S.K., Schneider R.J. Hepatitis B virus DNA replication is coordinated by core protein serine phosphorylation and HBx expression. *J. Virol.* 2005; 79(15): 9810–20. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.15.9810-9820.2005>
72. Prieto C., Montecinos J., Jiménez G., Riquelme C., Garrido D., Hernández S., et al. Phosphorylation of phylogenetically conserved amino acid residues confines HBx within different cell compartments of human hepatocarcinoma cells. *Molecules.* 2021; 26(5): 1254. <https://doi.org/10.3390/molecules26051254>
73. Goto T., Kato N., Ono-Nita S.K., Yoshida H., Otsuka M., Shiratori Y., et al. Large isoform of hepatitis delta antigen activates serum response factor-associated transcription. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(48): 37311–6. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002947200>