

УДК: 616.98:578.828HIV:001.8

ПОИСК ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ, БЛОКИРУЮЩИХ ИНФИЦИРОВАНИЕ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ВАРИАНТАМИ ВИЧ-1 СУБТИПОВ А, В И CRF63_02A1

Н.А. Бледных¹, Н.В. Унагаева¹, Ф.О. Мирджамалова²,
Н.Я. Черноусова², Н.М. Гашникова¹

¹Федеральное Бюджетное Учреждение Науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,

²Новосибирский областной Центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями

В работе исследованы сыворотки крови от ВИЧ-инфицированных людей с не прогрессирующей формой заболевания на панели инфекционных изолятов ВИЧ-1. Изучение вируснейтрализующих свойств выявило более слабое подавление изолятов рекомбинантной формы CRF63_02A1 ВИЧ-1, тогда как сыворотки от лиц, инфицированных вирусом CRF63_02A1, подавляли большинство изучаемых нами изолятов.

Ключевые слова: ВИЧ-1, методы оценки вируснейтрализации, широко нейтрализующие антитела.

SEARCH NEUTRALIZING ANTIBODIES THAT BLOCK INFECTION OF CELLS BY THE HUMAN GENETIC VARIANTS OF HIV-1 SUBTYPES A, B AND CRF63_02A1

N.A Blednyh¹, N.V Unagaeva¹, F.O Mirdzhamalova², N.Y Chernousova², N.M Gashnikova¹

¹State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia,

²GBUZ VAT "Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases", Koltsovo, Russia.

We studied serum from HIV-infected individuals with progressive form of the disease is not on the panel of infectious HIV-1 isolates. The study revealed neutralizing properties of the weaker suppression isolates CRF63_02A1 recombinant form of HIV-1, whereas sera from individuals infected with CRF63_02A1, the vast majority of the studied isolates us.

Key words: HIV-1, methods to assess virus neutralization, broadly neutralizing antibodies.

Несмотря на огромную сумму накопленных знаний о патогенезе ВИЧ, универсальной эффективной вакцины против ВИЧ еще не создано ввиду высокого антигенного и генетического разнообразия вируса. Успешная вакцина должна стимулировать как защитный клеточный иммунитет, так и выработку большого количества антител. Часто антитела нейтрализуют аутологичный вирус, и лишь небольшой процент ВИЧ-инфицированных вырабатывает антитела, способные нейтрализовать несколько отличающихся вирусных вариантов [4, 7, 8]. Широконейтрализующие антитела способны нейтрализовать большинство вирусных изолятов и представляют особый интерес для разработки вакцины, так как могут препятствовать инфицированию человека различными вариантами ВИЧ-1 [5]. Изучение особенностей широко нейтрализующих сывороток против ВИЧ-1 является трудным, но ключевым процессом для освещения механизмов патогенеза ВИЧ и одним из путей, ведущих к разработке эффективной вакцины против ВИЧ [9]. В России распространяются «свои» генетические варианты ВИЧ-1 (субтип А, CRF63_02A1), отличающиеся от ВИЧ-1, циркулирующих в других странах мира. Существует насущная потребность в поиске антител, способных ингибировать циркулирующие на территории РФ генетические варианты вируса [1-3, 6].

Целью работы являлось проведение скрининга сывороток крови, полученных от ВИЧ-инфицированных лиц с непрогрессирующими формами заболевания, изучение развития иммунного ответа, вызванного ВИЧ-инфекцией и поиска широконейтрализующих ВИЧ-1 антител.

Материалы и методы

Методы данного исследования, базируются на использовании уникальной коллекции современных российских инфекционных изолятов ВИЧ (включающей более 70-ти первичных изолятов ви-

руса субтипов А, В и рекомбинантных форм CRF02_AG, CRF63_02A1) и популяционного скрининга вируснейтрализующих антител, присутствующих в организме ВИЧ-1 инфицированных лиц, применение наиболее адекватной модели - первичных моноклеарных клеток крови человека, инфицированных первичными изолятами ВИЧ-1. Для каждого изолята ВИЧ-1 были определены основные характеристики, в частности: субтип ВИЧ-1, тропность вируса, заряд, длина, наличие гликозилирования V3-петли, 50% инфекционная доза (TCID₅₀).

При постановке реакции вируснейтрализации использованы отрицательные и положительные контрольные сыворотки. Процедура, которую мы использовали, предназначена для проведения теста нейтрализации по формату Endpoint Neutralization Assay. Этот метод оценивает конечный титр нейтрализующих антител в сыворотке при использовании фиксированного количества вируса (10-50 50% инфекционных доз ВИЧ-1). Титр нейтрализующих антител рассчитывается при 90% уровне ингибирования сывороткой вирусной инфекции, определенной по концентрации антигена р24 ВИЧ-1 в культуральной среде при сравнении размножения вируса в лунках в присутствии исследуемой сыворотки и серонегативной сыворотки.

Результаты исследования

При скрининге 124 пациентов, инфицированных ВИЧ более четырех лет, не принимавших антиретровирусной терапии, без прогрессирования ВИЧ-инфекции, было отобрано 11 образцов сывороток крови. Протестированные образцы сывороток крови были разделены на три группы: «сильные» (с высокой нейтрализующей способностью, титр нейтрализующих антител в сыворотке при 90% ингибировании ВИЧ превышает 1/160), «средние» (с титром антител 1/40-1/80) и «слабые» (с титром антител 1/20). Реакции вируснейтрализации проводили между гомо- и гетерологичными парами сыворотка-изолят ВИЧ-1 с разведением сыворотки 1/20-1/320, учитывая 90% подавление репродукции вируса. При исследовании образцов сывороток, полученных от лиц, инфицированных CRF63_02A1 ВИЧ-1 в реакции гомологичной нейтрализации в 91% случаев сыворотки CRF63_02A1 подавляли изоляты этого же геноваринта ВИЧ-1. Сыворотки, полученные от лиц, инфицированных субтипом А ВИЧ-1, нейтрализовали 80% гомологичных изолятов вируса. Анализ вируснейтрализующих свойств сывороток крови лиц, инфицированных CRF63_02A1, при гетерологичной нейтрализации ВИЧ показал ингибирование в 75% изолятов субтипа А, в 50% – субтипа В ВИЧ-1. При этом сыворотки от пациентов, инфицированных субтипом А, были способны в меньшей степени подавлять репродукцию изолятов новой рекомбинантной формы CRF63_02A1 ВИЧ – в 42% случаев и в 50% – изоляты субтипа В ВИЧ-1. Выявлено более слабое подавление изолятов CRF63_02A1 ВИЧ-1, в то же время сыворотки от лиц, инфицированных CRF63_02A1, нейтрализовали большинство исследованных в работе вирусов, включая гомологичные изоляты ВИЧ-1, ранее охарактеризованные, как наиболее устойчивые к нейтрализации.

Обсуждение результатов

Можно отметить, что выявлена некоторая зависимость между силой, универсальностью сыворотки по способности нейтрализовать отличающиеся варианты ВИЧ-1. В то же время проявляется различная чувствительность к нейтрализующим антителам первичных изолятов ВИЧ-1, некоторые из них обладают высокой устойчивостью к нейтрализации. Можно отметить, что при гомологичной нейтрализации проявляются более высокие показатели вируснейтрализующих характеристик сывороток. Анализ результатов показал более слабое подавление изолятов рекомбинантной формы CRF63_02A1 ВИЧ-1, в то же время сыворотки крови от лиц, инфицированных CRF63_02A1, подавляли большинство изолятов, используемых в реакции, включая гомологичные изоляты ВИЧ-1, определенные как наиболее устойчивые к нейтрализации. сыворотки, полученные от лиц, инфицированных CRF63_02A1 ВИЧ-1.

Выводы

Сыворотки, полученные от лиц, инфицированных CRF63_02A1 ВИЧ-1, показали наибольшую широту и силу нейтрализации в отношении генетически отличающихся изолятов ВИЧ-1, по сравнению антителами, появляющимися в организме в ответ на инфицирование ВИЧ-1 субтипа А. Вирусные изоляты CRF63_02A1 ВИЧ-1 проявляют высокую устойчивость к нейтрализации. Опираясь на результаты, полученные нами, можно сделать вывод, что изучение иммунопатогенеза ВИЧ-инфекции, вызванной CRF63_02A1, является перспективным для поиска новых эффективных в отношении подавления репликации ВИЧ-1 антител и для разработки усовершенствованных иммуногенов.

Литература

1. Гашникова Н.М., Сафронов П.Ф., Никонорова Ю.В. и др. Изучение свойств изолятов CRF02_AG ВИЧ-1, циркулирующих на территории Новосибирской области // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 3. – С. 38-43

2. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. Near full-length genome characterization of a newly derived unique recombinant form AG HIV-1 circulating in Siberia // Retrovirology. - 2012. - 9 (Suppl 1). - P. 28. Published online. doi: 10.1186/1742-4690-9-S1-P28., 2014
3. Baryshev P. B., Bogachev V. V., Gashnikova N. M. The HIV-1 Genetic Diversity in Russia: CRF63_02A1, a New HIV-1 Genetic Variant Spreading in Siberia. AIDS Research and Human Retroviruses. - 2013. - V. 29, doi:10.1089/aid.2013.0196.
4. Bonsignori M., Munir A., Liao H.-X. HIV-1 antibodies from infection and vaccination: insights for guiding vaccine design // Trends in Microbiology, Nov. 2012, Vol. 20, No. 11
5. Euler Z., Schuitemaker H. Cross reactive broadly neutralizing antibodies: timing is everything // Frontiers in Immunology. July 2012. Vol. 3.
6. Gashnikova N. M., Bogachev V. V., Baryshev P. B. et al. A Rapid Expansion of HIV-1 CRF63_02A1 Among Newly Diagnosed HIV-Infected Individuals in the Tomsk Region, Russia // AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES. – 2015. - V. 31, Num. 4.
7. Kwong P. D., Mascola J. R., Nabel G. J. et al. The changing face of HIV vaccine research. // Journal of the International AIDS Society. – 2012. V 15:17407
8. Verkoczy L., Kelsoe G., Barton F. Haynes HIV-1 Envelope gp41 Broadly Neutralizing Antibodies: Hurdles for Vaccine Development. - May 2014. - V. 10.
9. Walker L. M., Phogat S.K., Chan-Hui P.Y. et al. Broad and Potent Neutralizing Antibodies from an African Donor Reveal a New HIV-1 Vaccine Target // Science. – Oct. 2009. – V. 326. – P. 285 – 288.

Сведения об авторах

Бледных Наталья Анатольевна – младший научный сотрудник отдела ретровирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», E-mail: blednyh_na@vector.nsc.ru