



# Репликация вируса гепатита В, патобиология и терапия: нерешенные проблемы

Christoph Seeger\*, William S. Mason

Получено 4 января 2016 г.;  
получено с поправками 6 января  
2016 г.; принято в печать  
11 января 2016 г.

Fox Chase Cancer Center,  
Philadelphia, PA, USA

## Введение

За последние четыре десятилетия мы наблюдали значительный прогресс во всем, что касается изучения вируса гепатита В (HBV): биологии, включая репродукцию, патобиологии и противовирусной терапии. Изучение репликации вирусной ДНК позволило понять, что механизм персистенции вируса основан на амплификации ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК). Исследования на животных, в т. ч. утках, лесных сурках и шимпанзе, показали, что элиминация вируса связана с сильным ответом цитотоксических Т-лимфоцитов, которые разрушают инфицированные гепатоциты. Разработаны аналоги нуклеозидов, блокирующие репродукцию вируса. Они могут облегчить течение хронического гепатита В, но не могут удалить кзкДНК, что привело бы к излечению хронической инфекции [1].

## Репликация вируса

HBV поражает гепатоциты. Его репликация происходит путем обратной транскрипции промежуточной (прегеномной) РНК. Ядерная кзкДНК, образующаяся из рыхлой кольцевой ДНК, служит шаблоном для транскрипции. Новые геномы формируются путем обратной транскрипции, которая происходит внутри вирусных нуклеокапсидов в цитоплазме инфицированных клеток. Нуклеокапсиды со зрелой вирусной ДНК либо одеваются в оболочку и выходят из пораженной клетки, либо, при необходимости, перемещаются в ядро для амплификации кзкДНК. Белки оболочки также секретируются в виде субвирусных частиц, поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), как большое количество вирусоподобных частиц с пустыми нуклеокапсидами [2].

В целом ход инфекции и репродукции вируса понятен, однако на молекулярном уровне еще остаются белые пятна. 1. Мы до сих пор не знаем все этапы распаковки вирусных нуклеокапсидов, доставки вирусного генома

к клеточному ядру и формирования кзкДНК. 2. Ясно, что транскрипция кзкДНК зависит от специфических факторов транскрипции печени, но роль вирусных белков в транскрипции HBV пока непонятна. HBx необходим для эффективной транскрипции кзкДНК, но механизм этого неизвестен. Вероятно, HBx привлекает клеточный белок к лигазе Cullin 4–DDB1 E3, но природа этого клеточного белка остается неясной. Более того, отсутствует убедительное объяснение, почему вирусные белки нужны для транскрипции кзкДНК, которая содержит множество связывающих участков для факторов транскрипции печени, или почему клеточный белок блокирует транскрипцию кзкДНК. HBс, субъединица нуклеокапсида, также, по сообщениям, взаимодействует с кзкДНК, но ее роль в транскрипции еще более туманна. 3. Упаковка в нуклеокапсиды прегеномной РНК и обратная транскриптаза необходимы для синтеза вирусной ДНК, но сообщалось и об упаковке многих клеточных факторов, включая киназу, шапероны и члены семейства белков АРОВЕС. Молекулярные шапероны необходимы для прегеномной упаковки и инициации обратной транскрипции, которые, как предполагают, происходят одновременно. Белки АРОВЕС предположительно опосредуют защиту хозяина путем мутаций обратных транскриптов, но является ли это эффективной, биологически важной защитой организма от HBV, по-прежнему неизвестно. 4. Вариант HBс с сигнальным пептидом на N-конце секретируется инфицированными гепатоцитами как растворимый белок — антиген HBe. Полагают, что HBe подавляет ответ антител к HBсAg в инфицированных гепатоцитах, но данные неоднозначны. HBe также, по-видимому, влияет на эффективность репродукции HBV, судя по экспериментам с различными клеточными линиями гепатомы. Однако неясно, соответствуют ли эти эксперименты событиям *in vivo*. 5. Роль HBсAg в жизненном цикле вируса непонятна. Например, абсорбирует ли HBсAg нейтрализующие вирус антитела или играет какую-то другую роль в репродукции и персистенции вируса? 6. Наконец, варианты HBV, возникающие во

\* Автор, ответственный за переписку. Адрес: 333 Cottman Avenue, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, USA.  
E-mail: seeger@fccc.edu (C. Seeger).

Сокращения: HBsAg — поверхностный антиген вируса гепатита В; HBV — вирус гепатита В; ГЦР — гепатоцеллюлярный рак; кзкДНК — ковалентно замкнутая кольцевая ДНК.

время хронической инфекции, большинство которых теряется при передаче другому человеку. Роль этих вариантов в поддержании хронической инфекции, если она есть, еще исследуется.

### Патогенез инфекции

Патогенез гепатита В, по-видимому, опосредуется по большей части противовирусным иммунным ответом. Это может проявляться двойкой: иммунной элиминацией вируса, которая происходит обычно в течение первого года инфекции, и персистенцией вируса, сопровождающейся хроническим иммунным повреждением печени [3].

Иммунную элиминацию в первый год часто считают целью противовирусной терапии, нацеленной на инфицированные гепатоциты. Интересно, что элиминация часто неполная, но рецидив репликации вируса предотвращается иммунной системой. Однако об этих процессах известно, на удивление, мало. При элиминации вируса, как правило, разрушается множество гепатоцитов. С другой стороны, гепатоциты, остающиеся после фазы элиминации, происходят от инфицированных гепатоцитов со свидетельством того, что эти выжившие клетки прошли один и более циклов деления, предположительно чтобы поддержать клеточную массу печени. Это запутывает вопрос с элиминацией кзкДНК, поскольку можно вообразить, что она либо теряется при митозе, либо разрушается в отсутствие деления клеток за счет путей, опосредованных противовирусными цитокинами. Эксперименты в поисках этих путей или выявления других еще ждут своего часа. Иммунный контроль после фазы элиминации тоже остается неясным, как и локализация кзкДНК, которая ведет к рецидиву, если иммунная система не справляется.

Главный нерешенный вопрос касается механизмов и факторов, которые играют роль в ослаблении специфического иммунного ответа при хроническом гепатите В, по сравнению с тем, что имеет место во время иммунной элиминации вируса. Тем не менее ослабленная иммунная реакция все же вызывает повреждение печени, которое считается (но пока не доказано) первичным медиатором цирроза и гепатоцеллюлярного рака (ГЦР). Роль в развитии цирроза кажется очевидной, но связь с канцерогенезом менее убедительна. В частности, было высказано предположение, что продукты генов HBV, особенно HBx, имеют слабую трансформирующую активность (ГЦР обычно развивается через несколько десятилетий хронической инфекции, часто на фоне цирроза). Полагают, что интеграция вирусной

ДНК в хромосомы хозяина также несет трансформирующий потенциал за счет влияния на экспрессию генов хозяина [4]. Роль интеграции в канцерогенезе изначально предполагалась исходя из того, что канцерогенез в модели лесных сурков почти всегда связан с активацией экспрессии N-тус, которая может быть отнесена к происходящей рядом интеграции ДНК вируса гепатита лесных сурков (т. е. путем вставки промотора/усилителя). Аналогичной связи между интеграцией и ГЦР у пациентов с гепатитом В нет. Почти каждый очаг ГЦР у человека содержит клонально интегрированную ДНК HBV, что указывает на рост опухоли после интеграции. Однако, хотя некоторые регионы интеграции были найдены более чем в одном случае ГЦР у человека, ни один из этих участков интеграции не является общим для всех опухолей или хотя бы большой доли опухолей.

Источники связанного с HBV гепатоканцерогенеза становятся еще менее ясными, учитывая, что их клеточное происхождение неопределенно. В частности, все еще идут споры, возникает ли ГЦР за счет дедифференцировки зрелых гепатоцитов или из предшественников гепатоцитов/стволовых клеток. Наличие в опухолях интегрированной ДНК HBV может быть аргументом в пользу развития из гепатоцитов, но инфекция предшественников/стволовых клеток, если она происходит, также может быть трансформирующей. Этот вопрос осложняется неполным пониманием биологии печени: до сих пор неясно, играют ли роль предшественники гепатоцитов или стволовые клетки, которые, как традиционно считается, находятся в канальцах Геринга, в поддержании популяции гепатоцитов печени у взрослых или же популяция гепатоцитов полностью самообновляется даже при тяжелом повреждении печени [5]. Если гепатоциты полностью самообновляются, маловероятно, что опухоли происходят из предшественников гепатоцитов или стволовых клеток. Еще большую сложность вносят недавние данные, полученные на здоровых взрослых мышах, что роль предшественников или стволовых клеток играют гепатоциты, выстилающие центральную вену печеночной доли [6]; это говорит о том, что основной источник замещения гепатоцитов — субпопуляция зрелых гепатоцитов, восприимчивых к HBV.

### Противовирусная терапия

Лечение интерфероном может дать иммунную элиминацию HBV, но случается это редко. Нуклеозидные ингибиторы обратной транскрипции HBV эффективны для подавления репродукции вируса, что уменьшает интенсив-

## Редакционная статья

ность иммунного повреждения, предположительно за счет снижения числа инфицированных гепатоцитов [7]. Однако инфицированные гепатоциты почти всегда сохраняются в небольшом количестве, возможно, из-за неполного подавления синтеза кзкДНК, и инфекция возникает вновь после прекращения лечения или если возникают устойчивые к препаратам вирусы. Это оправдывает поиск более эффективных сочетаний, которые не только подавляют обратную транскрипцию большинства вариантов HBV, но и действуют на другие этапы синтеза вирусной ДНК (например, сборку нуклеокапсида). Кроме того, ведутся работы по привлечению нуклеаз (например, Cas9) к разрушению кзкДНК. Наконец, хорошо бы иметь терапию, которая бы эффективно индуцировала иммунную элиминацию и/или иммунный контроль у всех носителей HBV, хотя подходы к этой проблеме, кроме ограниченного успеха с терапией интерфероном, пока не достигли цели.

### Заключение

В настоящем выпуске рассматриваются эти и другие вопросы, касающиеся понимания жизненного цикла HBV и лечения хронического гепатита В. Конечная цель таких исследований — это не только получение более полного представления о жизненном цикле HBV, но и приобретение знаний, которые приведут к более эффективному лечению инфекции и устранению патогенетического процесса, которые ежегодно уносят жизни от 500 000 до 1 000 000 человек в год.

### Конфликты интересов

Авторы, принимавшие участие в настоящем исследовании, заявляют об отсутствии конфликтов интересов в отношении финансирования и написания статьи.

### Литература

- [1] Seeger C, Zoulim F, Mason WS. Hepadnaviruses. 6 ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2013.
- [2] Hu J, Seeger C. Hepadnavirus genome replication and persistence. Cold Spring Harb Lab Press 2015;10:1101.
- [3] Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. Annu Rev Pathol 2006;1:23–61.
- [4] Buendia MA, Neveu C. Hepatocellular carcinoma. Cold Spring Harb Perspect Med 2015;5:a021444.
- [5] Grompe M. Liver stem cells, where art thou? Cell Stem Cell 2014;15:257–258.
- [6] Wang B, Zhao L, Fish M, Logan CY, Nusse R. Self-renewing diploid Axin2(+) cells fuel homeostatic renewal of the liver. Nature 2015;524:180–185.
- [7] Gish RG et al. Chronic hepatitis B: Virology, natural history, current management and a glimpse at future opportunities. Antiviral Res 2015;121:47–58.