

Эндогенные ретровирусы: от фундаментальных исследований к этиотропной терапии рассеянного склероза

М.Н. Захарова, Д.Ю. Логунов, И.А. Кочергин, И.С. Бакулин

ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва); ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (Москва)

Ретровирусы – это РНК-содержащие вирусы, встраивающие свой геном в геном клетки организма хозяина. Гены ретровирусов составляют 9,3% генома человека и могут влиять на его функционирование за счет изменения структуры и стабильности локусов, привнесения новых регуляторных элементов, а также через экспрессию ретровирусных генов. В настоящее время активно изучается функциональная роль эндогенных ретровирусов в норме и при различных заболеваниях. В статье отражены современные представления о роли ретровирусов в развитии рассеянного склероза и открывающиеся в связи с этим перспективы этиотропной терапии.

Ключевые слова: эндогенные ретровирусы, рассеянный склероз, демиелинизация, этиотропная терапия.

Этиология демиелинизирующих заболеваний до настоящего времени остается неизвестной. Общепринятое мнение о мультифакториальности этих заболеваний предполагает в том числе значимую роль человеческих эндогенных ретровирусов (HERV, от англ. *human endogenous retroviruses*) в их развитии [10].

Ретровирусы – это РНК-содержащие вирусы, встраивающие свой геном в геном клетки организма хозяина. Для репликации своего генома ретровирусы используют механизм обратной транскрипции для синтеза копий ДНК. Как правило, ретровирусы инфицируют соматические клетки. Однако некоторые из них в результате инфекции могут попадать в клетки зародышевого пути; в этом случае интегрированные вирусные гены наследуются по тем же законам, что и остальные гены организма [11, 24].

В процессе эволюции происходили многократные вспышки ретровирусных инфекций и, если функции важных для выживания вида генов не были нарушены, то геном ретровирусов в составе генетического материала организма передавался последующим поколениям. Согласно современным представлениям около 9,3% генома человека состоит из геномов HERV и их остатков [10]. Со временем в генах HERV накапливались мутации, которые привели к нарушениям в экспрессии большей части вирусных белков и в конечном итоге к утрате способности образовывать зрелые инфекционные частицы. Однако часть эндогенных ретровирусов сохранила способность к транспозиции, экспрессии некоторых белков и образованию вирионов [19].

В настоящее время накоплено много свидетельств того, что HERV могут влиять на функционирование человеческого генома за счет изменения структуры и стабильности локусов генома, привнесения новых регуляторных элементов, а также через экспрессию ретровирусных генов [10].

В активации HERVs могут играть роль различные факторы: инфекционные, физические, токсические (наиболее важные из них представлены в табл. 1).

Первые работы по изучению генома HERV были проведены в лаборатории М.А. Martin в 1981 г. [18]. В последние годы резко возрос интерес к роли HERV в развитии таких заболеваний, как злокачественные опухоли, аутоиммунные и нейродегенеративные заболевания, сахарный диабет 1-го типа и др. [20]. Помимо HERV в геноме человека выявлены множественные последовательности вируса герпеса 6-го типа, вируса болезни Борна, вероятно ассоциированного с психическими заболеваниями человека [11, 14].

Наиболее значимыми во всех HERV являются 4 гена:

1. *Gag*, кодирующий матриксные (MA), капсидные (CA) и нуклеокапсидные (NC) протеины.
2. *Pro*, кодирующий вирусную протеазу (PR).
3. *Pol*, кодирующий обратную транскриптазу (RT) и интегразу.
4. *Env*, кодирующий гликопротеины с поверхностными и трансмембранными субъединицами.

В настоящее время распространение получили несколько систем классификации эндогенных ретровирусов. Одна из них основана на специфичности тРНК, используемой ретровирусом в качестве праймера в процессе обратной транскрипции. Например, HERV-K (праймер – лизиновая тРНК), HERV-H (праймер – гистидиновая тРНК) и т.д. Согласно данной классификации выделяют 31 семейство эндогенных ретровирусов. Другая система классификации HERV основана на степени гомологии их нуклеотидной последовательности между собой и в сравнении с известными экзогенными ретровирусами [1]. Наиболее консервативные последовательности находятся в гене *pol*, но иногда для построения классификаций используют последовательности *gag*, *env* или протеазного домена, хотя они менее консервативны. С помощью данного подхода HERV были

таблица 1: Активаторы экспрессии эндогенных ретровирусов человека (адаптировано из Emmeg и соавт., 2014.).

Фактор	Эндогенный ретровирус	Модель
Аспирин	HERV-W	линия клеток нейробластомы
Кофеин	HERV-W	линия клеток нейробластомы
Вирус Эпштейн-Барр, взаимодействие с CD21	HERV-K18	покоящиеся В-клетки
Вирус Эпштейн-Барр LMP2A	HERV-K18	линии клеток лимфобластомы и лимфомы Беркитта
Вирус простого герпеса 1-го типа	HERV-K; HERV-W	линия клеток тератокарциномы линия клеток нейробластомы
Цитомегаловирус	разные вирусы	эндотелиальные клетки, моноциты
Герпесвирус 6А	HERV-K18	линия клеток Т-лимфобластной лейкемии
Герпесвирус 6В	HERV-K18	моноклеары
Вирус иммунодефицита человека	HERV-K	лимфоциты периферической крови
Человеческий Т-лимфотропный вирус	разные вирусы	линия клеток Т-клеточной лейкемии
Гипоксия	HERV-R	линия клеток лимфомы Ходжкина
Вирус гриппа А	HERV-W	культура клеток фибробластов
Ионизирующее излучение	HERV-R	линия клеток эмбриональной почки
Ретиноевая кислота	HERV-W	линия клеток хориокарциномы
Токсоплазма гондии	разные вирусы	линия клеток саркомы Эвинга
Фактор некроза опухолей альфа	HERV-W	линия клеток глиомы
Ультрафиолетовое излучение	HERV-K	линия клеток кератиноцитов, линия клеток меланомы

разделены на 3 группы (группа I, группа II, группа III), которые включают не только вирусы млекопитающих, но также вирусы рептилий, амфибий, птиц и т.д. [24].

Сегодня известно, что около половины генома человека представлено мобильными элементами, обеспечивающими его многообразие и пластичность. Эти мобильные элементы, в т.ч. и HERV, при интеграции в геном человека способны изменять регуляторные участки генов, участвовать в репарации ДНК, сплайсинге, изменять экспрессию генов. HERV являются мобильными переносчиками транскрипционных регуляторных элементов, что объясняет их возможность влиять на экспрессию генов, особенно молодых в эволюционном отношении (в частности, генов системы HLA, влияющих на иммунный ответ) [11].

Кроме того, некоторые HERV кодируют белки, сходные с трансмембранными протеинами и обладающие иммуносупрессивными свойствами. Экспрессия подобных белков может обеспечивать нарушение функции натуральных киллеров, что является одним из механизмов нарушения иммунной толерантности. Изменение регуляторных функций онкогенов или инактивация генов-супрессоров опухолевого роста может являться пусковым фактором канцерогенеза. Нарушение экспрессии генов и синтез белковых продуктов с измененной структурой может лежать в основе развития нейродегенеративных заболеваний [10].

Регуляция экспрессии HERV в центральной нервной системе определяется рядом факторов: полиморфизмом, антиретровирусными механизмами клеточной защиты. Сохраняющаяся потенциальная активность HERV поддается через эпигенетические модификации ДНК. Альтернативный путь – ингибирование транскрипции HERV с участием ретровирусных факторов рестрикции. При боковом амиотрофическом склерозе важную роль может играть мутация TDP-43, которая может приводить к активации HERV и развитию заболевания [12, 20].

В табл. 2 представлены неврологические и психические заболевания, ассоциированные с активацией HERV.

таблица 2: HERV, ассоциированные с неврологическими и психическими заболеваниями.

HERV	Заболевания	Триггеры	Патогенез
HERV-W	рассеянный склероз шизофрения	герпесвирусы токсоплазма провоспалительные цитокины	вирионы MSRV Env суперантиген – изменение функций глии
HERV-H/F	рассеянный склероз	не установлены	Env суперантиген
HERV-K	шизофрения боковой амиотрофический склероз ВИЧ-инфекция	герпесвирусы токсоплазма человеческий Т-лимфотропный вирус	Env суперантиген

Интерес к HERV при рассеянном склерозе (РС) возник с получением данных о связи HERV с определенными локусами системы HLA, ассоциированными с развитием этого заболевания.

В 1989 г. Н. Pеггоп и соавт. выделили из лептоменингеальных клеток больных с РС так называемые РС-ассоциированные ретровирусы (MSRV, от англ. *multiple sclerosis retroviruses*) [21]. В дальнейшем было показано, что этот ретровирус представляет собой химерную форму HERV-M и ERV-9 и относится к новому семейству HERV-W. Получены данные о способности MSRV к репликации и формированию вирусных частиц. В последующем в нервной системе больных с РС были идентифицированы антигены и других HERV, а именно HERV H/F. Было обнаружено, что количество частиц и копий РНК эндогенных ретровирусов семейств MSRV и HERV-H повышается у больных РС по сравнению с контролем [5, 6]. Однако возможно, что несколько HERV локусов способствуют этому и активируются у больных РС, поскольку обнаруживаются гетерогенные нуклеотидные последовательности.

Пациенты с РС, в сыворотках и образцах из ЦНС которых были обнаружены детектируемые уровни MRSV, составили до 50% в группе из Франции [13] и до 100% в группе из Сардинии [25]. Также MRSV определялся в крови 6% здоровых добровольцев, некоторых больных биполярным расстройством, 40% больных другими неврологическими заболеваниями и у 22% пациентов с ревматоидным артритом в синовиальной жидкости. Повышение экспрессии MSRV в тканях мозга больных РС и увеличение числа копий MSRV в крови были ассоциированы с плохим прогнозом РС [20, 22].

Было показано, что повышение экспрессии MSRV может индуцироваться воспалительными агентами [22, 23, 25]. Например, у больных РС экспрессия MSRV увеличивается в присутствии HHV-6. Кроме того, экспрессия белков MSRV, например, *pol* и *env*, также приводит к развитию мощного воспалительного ответа [22]. Свидетельством этому служит тот факт, что ни один из больных РС, которому вводили противовоспалительные препараты, не имел детектируемых уровней MSRV [13]. Также было показано, что терапия β-интерфероном уменьшает количество MSRV в плазме крови и индекс прогрессирования РС. У пациентов с РС, у которых была обнаружена активность обратной транскриптазы, выявлен токсин, приводящий к гибели глиальных клеток. Данный токсин, названный глиотоксином, был также обнаружен в цереброспинальной жидкости больных РС и, как показали дальнейшие исследования, ассоциирован с РНК MSRV. Это открытие позволяет предполагать прямую провоспалительную роль продуктов генов MSRV [12].

Патогенность вирусных частиц MSRV была оценена в нескольких экспериментах на иммунодефицитных мышцах, которым прививали лимфоциты человека и перитонияльно вводили вирионы MRSV. У животных развивались церебральные геморрагии, и они погибали через 5–10 дней после инфекции. Обнаружена циркуляция РНК MSRV в крови мышцей, а также повышенная экспрессия трансформирующего ростового фактора β в селезенке. Результаты данного исследования показали, что вирионы MSRV, выделенные от пациентов с РС, могут обладать потенциальными иммунопатогенетическими свойствами, опосредованными Т-клетками. Патогенные свойства MSRV также связаны с индукцией ответа врожденной иммунной системы через активацию TLR (от англ. *toll-like receptor*) [22].

Другим белком, представляющим значительный интерес, является синцитин. J.M. Antony и соавт. обнаружили, что уровни мРНК синцитина и самого белка значительно выше в образцах тканей мозга, взятых от больных РС, по сравнению с образцами, полученными от пациентов с болезнью Альцгеймера, ВИЧ-энцефалитом или здоровых добровольцев. При этом экспрессия синцитина увеличивалась в астроцитах и микроглии и была ассоциирована с повреждением олигодендроцитов. При культивировании человеческих астроцитов или микроглии с добавлением форболового эфира (для активации клеток) экспрессия синцитина увеличивалась [3, 15]. Повышение экспрессии этого белка в астроцитах и макрофагах привело к увеличению продукции провоспалительного цитокина интерлейкина-1β и реактивных радикалов кислорода. Культуральная среда из астроцитов с повышенной экспрессией синцитина была токсична для олигодендроцитов. Однако эту токсичность можно было нивелировать добавлением феруловой кислоты, которая обладает антиоксидантными свойствами, а также добавлением противовоспалительных препаратов и ингибиторов оксида азота.

Для того чтобы определить, может ли синцитин быть причиной демиелинизации в условиях *in vivo*, авторы вводили вирусный вектор, экспрессирующий синцитин в мозолистое тело мышей [2]. В итоге инфицированные астроциты экспрессировали большое количество синцитина, вызывая повреждение олигодендроцитов и нарушение их функции. Когда мышам вводили феруловую кислоту, астроциты по-прежнему экспрессировали синцитин, но повреждения олигодендроцитов не происходило.

В настоящее время из 30 известных семейств HERV только несколько ассоциировано с развитием РС. Тесная связь развития РС и его обострений с повышенной инсоляцией или носительством некоторых герпесвирусов, которые являются известными активаторами HERVs (табл. 1), может указывать на триггерную роль этих факторов в активации HERV у пациентов с РС [12, 16, 17]. Трансактивация HERV вирусами семейства герпеса реализуется через транскрипционный фактор ICP0 (*immediate early protein 0*) [20].

При РС и других аутоиммунных заболеваниях (системная красная волчанка, псориаз) было показано, что HERV могут играть роль суперантигенов и вызывать поликлональную продукцию Т-лимфоцитов [4]. Например, в MSRV-Env было идентифицировано 3 домена (сигнальный пептид, поверхностный Su и трансмембранный ТМ домены). Su домен является агонистом Toll-подобного рецептора-4 (TLR-4), способен нарушать функциональную роль этого рецептора в формировании иммунного ответа и приводит к развитию аутоиммунных реакций. Белок MSRV-Env является мощным индуктором созревания дендритных клеток и поддерживает созревание Th1-лимфоцитов.

Помимо клеточной активации, вызванной HERV-W Env, повышенная продукция антител против антигенов HERV зарегистрирована в ликворе и сыворотке больных РС. Была идентифицирована экспрессия поверхностных HERV Env протеинов в В-клетках и моноцитах, коррелирующая с интенсивностью гуморального ответа. Не исключено, что интраклеточный синтез олигоклональных иммуноглобулинов частично обусловлен анти-HERV реактивностью [12].

Активация TLR-4 под действием генного продукта MSRV Env приводит к увеличению экспрессии транскрипционных факторов, индуцибельной NO-синтазы, увеличению синтеза провоспалительных цитокинов, свободнорадикальных соединений, в т.ч. супероксида и пероксинитрита. Пероксинитрит может играть ключевую роль в повреждении тирозинсодержащих ферментов, ингибировать дифференцировку олигодендроцитов и ремиелинизацию [14]. У больных с РС показана экспрессия MSRV-Env в макрофагах и активных очагах на разных этапах демиелинизирующего процесса [4, 12].

В связи с этим разработана новых методов таргетной терапии, направленная на уменьшение активности и экспрессии эндогенных ретровирусов, являемых первым этапом этиотропной терапии РС и других заболеваний. Препарат моноклональных антител GNbAC1 является гомонизированным рекомбинантным антителом, селективно связывающимся с эпитопом Su домена MSRV-Env протеина. Основной механизм действия препарата обусловлен предотвращением взаимодействия MSRV-Env с TLR-4 иммунокомпетентных клеток. В то же время в экспериментальных условиях показано, что при введении препарата наблюдается увеличение активности TLR-4 [8].

К настоящему времени проведены I и II фазы исследования препарата на здоровых добровольцах и пациентах с РС с прогрессирующими формами заболевания, которые показали удовлетворительную переносимость и безопасность препарата [9]. В моделях *in vitro* и *in vivo* было доказано, что препарат GNBAC1 оказывает двойной эффект: ингибирует каскад воспалительных реакций и оказывает протективное

действие на олигодендроциты на стадии их предшественников [8].

Таким образом, открытие данных о нарастании экспрессии эндогенных ретровирусов при РС и разработка лекарственных препаратов, влияющих на их экспрессию, открывают новые возможности этиотропной терапии РС.

Список литературы

1. Andersson M.L., Lindskog M., Medstrand P. et al. Diversity of human endogenous retrovirus class II-like sequences. *J Gen Virol.* 1999; 80 (1): 255–260.
2. Antony J.M., van Marle G., Opii W. et al. Human endogenous retrovirus glycoprotein-mediated induction of redox reactants causes oligodendrocyte death and demyelination. *Nat Neurosci.* 2004; 7(10): 1088–1095.
3. Antony J.M., Zhu Y., Izad M. et al. Comparative expression of human endogenous retrovirus-W genes in multiple sclerosis. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007; 23 (10): 1251–1256.
4. Balada E., Vilardell-Tarrés M., Ordí-Ros J. Implication of human endogenous retroviruses in the development of autoimmune diseases. *Int Rev Immunol.* 2010; 29 (4): 351–370.
5. Christensen T., Tønjes R.R., zur Megede J. et al. Reverse transcriptase activity and particle production in B lymphoblastoid cell lines established from lymphocytes of patients with multiple sclerosis. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1999; 15(3): 285–315.
6. Christensen T. HERVs in neuropathogenesis. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2010; 5 (3): 326–335.
7. Clausen J. Endogenous retroviruses and MS: using ERVs as disease markers. *Int MS J.* 2003; 10 (1): 22–28.
8. Curtin F., Perron H., Faucard R. et al. Treatment Against Human Endogenous Retrovirus: A Possible Personalized Medicine Approach for Multiple Sclerosis. *Mol Diagn Ther.* 2015; 19 (5): 255–265.
9. Derfuss T., Curtin F., Guebelin C. et al. A phase IIa randomized clinical study testing GNBAC1, a humanized monoclonal antibody against the envelope protein of multiple sclerosis associated endogenous retrovirus in multiple sclerosis patients – a twelve month follow-up. *J Neuroimmunol.* 2015; 285: 68–70.
10. Dolei A., Perron H. The multiple sclerosis-associated retrovirus and its HERV-W endogenous family: a biological interface between virology, genetics, and immunology in human physiology and disease. *J Neurovirol.* 2009; 15 (1): 4–13.
11. Douville R.N., Nath A. Human endogenous retroviruses and the nervous system. *Handb Clin Neurol.* 2014; 123: 465–485.
12. Emmer A., Staegle M.S., Kornhuber M.E. The retrovirus/superantigen hypothesis of multiple sclerosis. *Cell Mol Neurobiol.* 2014; 34 (8): 1087–1096.
13. Garson J.A., Tuke P.W., Giraud P. et al. Detection of virion-associated MSR-V-RNA in serum of patients with multiple sclerosis. *Lancet.* 1998; 351 (9095): 33.
14. Hon G.M., Erasmus R.T., Matsha T. et al. Multiple sclerosis-associated retrovirus and related human endogenous retrovirus-W in patients with multiple sclerosis: a literature review. *J Neuroimmunol.* 2013; 263 (1–2): 8–12.
15. Kudo Y., Boyd C.A., Sargent I.L., Redman C.W. Hypoxia alters expression and function of syncytin and its receptor during trophoblast cell fusion of human placental BeWo cells: implications for impaired trophoblast syncytialisation in pre-eclampsia. *Biochim Biophys Acta.* 2003; 1638 (1): 63–71.
16. Mameli G., Madeddu G., Mei A. et al. Activation of MSR-V-type endogenous retroviruses during infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus latency: the missing link with multiple sclerosis? *PLoS One.* 2013; 8 (11): e78474.
17. Mameli G., Poddighe L., Mei A. et al. Expression and activation by Epstein Barr virus of human endogenous retroviruses-W in blood cells and astrocytes: inference for multiple sclerosis. *PLoS One.* 2012; 7 (9): e44991.
18. Martin M.A., Bryan T., Rasheed S. et al. Identification and cloning of endogenous retroviral sequences present in human DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981; 78 (8): 4892–4896.
19. Moyes D., Griffiths D.J., Venables P.J. Insertional polymorphisms: a new lease of life for endogenous retroviruses in human disease. *Trends Genet.* 2007; 23 (7): 326–333.
20. Nissen K.K., Laska M.J., Hansen B. et al. Endogenous retroviruses and multiple sclerosis-new pieces to the puzzle. *BMC Neurol.* 2013; 13: 111.
21. Perron H., Garson J.A., Bedin F. et al. Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. The Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94 (14): 7583–7588.
22. Rolland A., Jouvin-Marche E., Saresella M. et al. Correlation between disease severity and *in vitro* cytokine production mediated by MSR-V (multiple sclerosis associated retroviral element) envelope protein in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2005; 160 (1–2): 195–203.
23. Saresella M., Rolland A., Marventano I. et al. Multiple sclerosis-associated retroviral agent (MSRV)-stimulated cytokine production in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2009; 15 (4): 443–447.
24. Sunsova M., Garazha A., Ivanova A. et al. Molecular functions of human endogenous retroviruses in health and disease. *Cell Mol Life Sci.* 2015; 72 (19): 3653–3675.
25. Serra C., Sotgiu S., Mameli G. et al. Multiple sclerosis and multiple sclerosis-associated retrovirus in Sardinia. *Neurol Sci.* 2001; 22 (2): 171–173.
26. Serra C., Mameli G., Arru G. et al. *In vitro* modulation of the multiple sclerosis (MS)-associated retrovirus by cytokines: implications for MS pathogenesis. *J Neurovirol.* 2003; 9 (6): 637–643.

Endogenous retrovirus: from fundamental studies to etiotropic therapy of multiple sclerosis

M.N. Zakharova, D.Y. Logunov, I.A. Kochergin, I.S. Bakulin

*Research Center of Neurology, Moscow, Russia;
N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

Keywords: endogenous retroviruses, multiple sclerosis, demyelination, etiotropic therapy.

Retroviruses are a single-stranded RNA viruses that introduce their genes into host cells genome. Genes of retroviruses compose 9.3% of human genome. These genes may influence human genome activity by changing its structure and stability, introducing regulatory elements and expression of retroviral genes.

Recently role of endogen retroviruses in human disease is studied. This article presents an overview of the role of retroviruses in the development of multiple sclerosis and potential approaches to etiotropic therapy.

Контактный адрес: Захарова Мария Николаевна – докт. мед. наук, и.о. руководителя VI неврологического отделения ФГБНУ НЦН. 125367, Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (495) 490-24-13, e-mail: bakulinilya@gmail.com;

Логунов Д.Ю. – зав. лаб. клеточной микробиологии ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»;

Кочергин И.А. – асп. ФГБНУ НЦН;

Бакулин И.С. – асп. ФГБНУ НЦН.