



# Ассоциация полиморфизма генов 2'-5'-олигоаденилатсинтетаз с уровнем гуморального иммунного ответа после вакцинации против клещевого энцефалита

Н.С. Юдин<sup>1, 2, 3</sup>✉, А.В. Игошин<sup>1</sup>, С.Л. Лутова<sup>4</sup>, Я. Гон<sup>2</sup>, М.И. Воевода<sup>1, 2, 3</sup>, В.А. Белявская<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская поликлиника № 14», Новосибирск, Россия

<sup>5</sup> Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Новосибирская область, р. п. Кольцово, Россия

Вакцинация является эффективным средством профилактики клещевого энцефалита, формирующим активный иммунитет. Однако избыточная иммунизация при вакцинации неоправданна с точки зрения экономики и медицинской этики. Одним из подходов к индивидуализации вакцинации может быть подбор доз вакцины в зависимости от ожидаемого уровня иммунного ответа пациента. Поэтому возникает необходимость разработки методов оценки потенциального уровня иммунологических реакций человека до проведения вакцинации. Цель работы – поиск возможных ассоциаций однонуклеотидных полиморфных маркеров (ОНП) в генах *OAS2* и *OAS3*, для которых ранее была найдена корреляция с развитием тяжелых форм клещевого энцефалита, а также с образованием антител и цитокинов после вакцинации против клещевого энцефалита. В исследовании приняли участие 97 добровольцев обоего пола, ранее не вакцинированных и не имевших контактов с клещами. Через один месяц после иммунизации вакциной «ЭнцеВир» у них брали пробы венозной крови. Анализировали уровни специфических антител IgG против вируса клещевого энцефалита и интерлейкина 4 (ИЛ-4). Генотипировали ОНП rs2285932, rs2072136, rs1293762, rs15895 и rs1732778 в генах 2'-5'-олигоаденилатсинтетаз *OAS2* и *OAS3*. Выработка антител в ответ на введение вакцины была достоверно ассоциирована с ОНП rs1732778 в регуляторном районе гена *OAS2*. Этот показатель оказался существенно выше у людей с гетерозиготным генотипом G/A, чем у субъектов с гомозиготными генотипами G/G и A/A. Индивидуальные носители аллеля A в составе генотипов G/A и A/A этого же ОНП имели сниженный уровень ИЛ-4 по сравнению с гомозиготными индивидами G/G. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что ОНП rs1732778 в регуляторной области гена *OAS2* ассоциирован с образованием противовирусных антител IgG и уровнем ИЛ-4 после вакцинации. По-видимому, генетический полиморфизм в гене *OAS2* следует принимать во внимание при индивидуализации вакцинопрофилактики клещевого энцефалита.

Ключевые слова: клещевой энцефалит; вакцинация; IgG антитела; ген; *OAS2*; *OAS3*; однонуклеотидный полиморфизм; ассоциация.

## Association between polymorphisms in genes encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetases and the humoral immune response upon vaccination against tick-borne encephalitis

N.S. Yudin<sup>1, 2, 3</sup>✉, A.V. Igoshin<sup>1</sup>, S.L. Lutova<sup>4</sup>, Ya. Gon<sup>2</sup>, M.I. Voevoda<sup>1, 2, 3</sup>, V.A. Belyavskaya<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>4</sup> State Budgetary Health Care Institution of the Novosibirsk Region “City Hospital № 14”, Novosibirsk, Russia

<sup>5</sup> State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector” of the Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protection and Human Well-being, Novosibirsk region, Koltsovo, Russia

Vaccination forms active immunity and represents an effective way of preventing tick-borne encephalitis (TBE). However, excessive vaccination is unjustified in terms of economics and medical ethics. One of the individualized approaches to vaccines is the selection of vaccine doses depending on the expected levels of immune response. Therefore, there is a need for new methods for assessing potential human immune responses prior to vaccination. The aim of this study was to find a possible correlation between single nucleotide polymorphisms (SNPs) located within *OAS2* and *OAS3* genes, which have previously been associated with the development of severe forms of TBE, and the formation of antibodies and cytokines upon vaccination against TBE. The study involved 97 volunteers of both sexes who had not previously been vaccinated against TBE and had no contact with ticks. Venous blood samples were collected one month after vaccination against TBE using the EnceVir vaccine. Levels of specific IgG antibodies against tick-borne encephalitis virus (TBEV) and interleukin 4 (IL-4) were analyzed. Genomic DNA samples were genotyped for the single nucleotide polymorphisms rs2285932, rs2072136, rs1293762, rs15895 and rs1732778 in the *OAS2* and *OAS3* genes encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetases. Antibody production in response to vaccine administration was significantly associated with SNP rs1732778 in the regulatory

region of the *OAS2* gene. This indicator was significantly higher in people with heterozygous genotypes G/A as compared to people with homozygous genotypes G/G and A/A. Carriers of the A allele (G/A or A/A genotypes) of the same SNP had reduced IL-4 levels as compared to those in the homozygous G/G individuals. Thus, the data obtained indicate that SNP rs1732778 in the regulatory region of the *OAS2* gene correlates with the formation of antiviral IgG antibodies and changes in IL-4 levels upon vaccination. Evidently, the genetic polymorphism in *OAS2* gene should be considered when performing individualized TBE vaccinations.

Key words: tick-borne encephalitis; vaccination; IgG antibodies; gene; *OAS2*; *OAS3*; single nucleotide polymorphism; correlation.

#### КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Юдин Н.С., Игошин А.В., Лутова С.Л., Гон Я., Воевода М.И., Белявская В.А. Ассоциация полиморфизма генов 2'-5'-олигоденилатсинтетаз с уровнем гуморального иммунного ответа после вакцинации против клещевого энцефалита. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(4):445-451. DOI 10.18699/VJ18.381

#### HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Yudin N.S., Igoshin A.V., Lutova S.L., Gon Ya., Voevoda M.I., Belyavskaya V.A. Association between polymorphisms in genes encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetases and the humoral immune response upon vaccination against tick-borne encephalitis. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(4):445-451. DOI 10.18699/VJ18.381

Клещевой энцефалит – природно-очаговая вирусная инфекция, которая характеризуется лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного мозга (энцефалит) и/или мозговых оболочек (менингит и менингоэнцефалит) (Иерусалимский, 2001). Заболевание может привести к стойким неврологическим и психиатрическим осложнениям и даже смерти больного. Возбудитель клещевого энцефалита – РНК-содержащий вирус (ВКЭ), относящийся к семейству *Flaviviridae*. Основным резервуаром, поддерживающим существование возбудителя в природе, являются иксодовые клещи – *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*. Случаи заболевания все чаще отмечаются на новых территориях, что свидетельствует о миграции вируса (Valarcher et al., 2015). Эффективным средством профилактики клещевого энцефалита, формирующим активный иммунитет, служит вакцинация (Билалова, 2009). Повышение мобильности людей, усиление миграционных процессов делают вакцинацию населения все более насущной задачей.

По мере накопления информации о механизмах развития иммунного ответа и его прогнозирования, а также о наличии потенциальных побочных эффектов становится актуальным дифференцированный подход к проведению профилактических вакцинаций, так называемая индивидуализация вакцинаций (Медуницын, 2004). Цель индивидуализации вакцинаций заключается в создании необходимой иммунной защиты организма при избегании излишней иммунизации, которая неоправданна с точки зрения целесообразности, экономики и медицинской этики. Один из подходов к индивидуализации вакцинации – подбор доз вакцины в зависимости от ее активности, стадии вакцинального процесса и ожидаемого уровня иммунного ответа вакцинируемого. Поэтому необходима разработка методов оценки потенциального уровня иммунологических реакций человека до проведения вакцинации.

Индивидуальная вариабельность выработки и длительного присутствия антител после вакцинации в значительной степени обусловлена наследственными особенностями клеточного и гуморального иммунитета, а также

типом вакцины, схемой вакцинации и другими средовыми факторами, например питанием (Poland et al., 2008). Гены, кодирующие белки иммунной системы и регуляторные области ДНК вблизи этих генов, содержат большое число однонуклеотидных полиморфных маркеров (ОНП) (Poland et al., 2011). Показано, что ОНП в генах главного комплекса гистосовместимости, а также в генах цитокинов и их рецепторов ассоциированы с иммунным ответом или его отсутствием у индивида в результате вакцинации (Linnik, Egli, 2016).

Белки семейства 2'-5'-олигоденилатсинтетаз (*OAS*) – важные факторы врожденного противовирусного иммунитета. У человека известно четыре гена, кодирующих белки этого семейства, – *OAS1*, *OAS2* и *OAS3*, расположенные кластером на участке q24 хромосомы 12, и *OASL*, локализованный на хромосоме 12. Белки *OAS1*, *OAS2* и *OAS3* присутствуют в клетке в мономерной форме. Появление двуцепочечной РНК вируса вызывает активацию ферментов, которые используют в качестве субстрата АТФ и катализируют полимеризацию АМФ с образованием 2'-5'-олигоденилатов. Эти соединения взаимодействуют с латентной эндорибонуклеазой L, вызывая ее димеризацию и активацию, что приводит к деградации как клеточной, так и вирусной РНК, и, следовательно, к подавлению размножения вируса. Транскрипция мРНК генов семейства *OAS* индуцируется интерферонами (Hovanessian, Justesen, 2007; Kristiansen et al., 2011; Юдин и др., 2018).

Ранее при анализе 23 ОНП в генах *OAS1*, *OAS2*, *OAS3* и *OASL* было показано, что частоты генотипов, аллелей и/или гаплотипов по пяти SNP в генах *OAS2*: rs1293762 (интрон 2), rs15895 (3'-UTR), rs1732778 (3'-фланкирующий район) и *OAS3*: rs2285932 (экзон 6, Ile438Ile), rs2072136 (экзон 8, Ser567Ser) статистически достоверно различаются в группах больных тяжелыми формами клещевого энцефалита с поражением центральной нервной системы (менинго-энцефалитическая форма и др.) и больных с более легким течением заболевания, без поражения центральной нервной системы (лихорадочная, менингеальная формы), и/или с популяционным контролем (Barkhash et al., 2010). В генах семейства *OAS* ОНП ассоциированы с

чувствительностью к другим заболеваниям, вызываемым флавивирусами: лихорадке Западного Нила (Yakub et al., 2005; Lim et al., 2009; Bigham et al., 2011; Danial-Farran et al., 2015) и лихорадке денге (Alagarasu et al., 2013; Thamizhmani, Vijayachari, 2014), а также с ответом на противовирусную терапию интерфероном при гепатите С (Imrhan et al., 2014). I.H. Naralambieva с коллегами (2010) показали наличие ассоциаций 23 ОНП в кластере генов *OAS* с уровнем антител и секрецией ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-10 после вакцинации против краснухи.

Целью работы стал поиск возможных ассоциаций ОНП в генах *OAS2* и *OAS3*, для которых ранее была найдена ассоциация с развитием тяжелых форм клещевого энцефалита, с образованием антител и цитокинов после вакцинации против клещевого энцефалита.

### Материалы и методы

В исследовании приняли участие 97 добровольцев (56 мужчин и 41 женщина) в возрасте от 15 до 30 лет (медиана 26 лет), ранее не вакцинированных против клещевого энцефалита и не имевших (по результатам анкетирования) контактов с клещами. Для иммунизации использовали вакцину «ЭнцеВир» против клещевого энцефалита (НПО «Микроген», Томск). Она представляла собой очищенную концентрированную стерильную суспензию инактивированного формалином и сорбированного на гидроксиде алюминия вируса клещевого энцефалита, полученного путем размножения во взвешенной культуре клеток куриных эмбрионов. Вакцину применяли по рекомендованной производителем схеме. Через один месяц после вакцинации брали пробы венозной крови. Планируемое исследование было одобрено этическим комитетом Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании.

Уровни специфических антител IgG против ВКЭ и интерлейкина 4 (ИЛ-4) анализировали методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «ВектоВКЭ-IgG-стрип» и «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», р.п. Кольцово, Новосибирская область).

Геномную ДНК выделяли из периферической крови стандартным методом протеолитической обработки с последующей экстракцией фенолом (Sambrook, Russell, 2006). Генотипирование ОНП-локусов rs2285932, rs2072136, rs1293762, rs15895 и rs1732778 в генах 2'-5'-олигоденилатсинтетаз *OAS2* и *OAS3* осуществляли по методикам из (Barkhash et al., 2010). Проверку отклонения распределения генотипов от равновесия Харди–Вайнберга проводили с помощью программы Hardy–Weinberg equilibrium calculator (<http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>).

Для определения нормальности распределения исследуемых признаков использовали критерий Колмогорова–Смирнова. Поскольку признаки не подчинялись нормальному распределению, в сравниваемых группах вычисляли медиану 25 % и 75 % квартилей. Эффект пола оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Поскольку

пол не оказывал существенного влияния на исследуемые признаки, в дальнейших вычислениях его не учитывали. Эффект генотипа оценивали с помощью общей линейной модели. Зависимую переменную (уровень IgG антител) для статистического анализа подвергали логарифмической трансформации к нормальному распределению. Ранее при исследовании этой же выборки нами было показано достоверное влияние возраста на этот показатель (Лутова и др., 2016). Поэтому в модель вводили генотип как фиксированный фактор и возраст как ковариату. Парные сравнения выполняли путем *post hoc* анализа с использованием критерия Фишера. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали равным 0.05. Обработку результатов проводили с помощью пакета STATISTICA версии 8.0.

### Результаты

Нами зафиксирован протективный иммунный ответ IgG против ВКЭ у 85.8 % женщин и 86.3 % мужчин (уровень IgG против ВКЭ > 100 МЕ/мл). Аналогичные результаты получены ранее другими исследователями при проведении вакцинопрофилактики клещевого энцефалита среди взрослого населения (Билалова, 2009). У всех обследуемых уровень ИЛ-4 (0.37–25.95 мг/мл) находился в допустимых пределах (ЗАО «Вектор-Бест», 2004), что свидетельствует о нормальном протекании процесса вакцинации.

ОНП в изученных генах были успешно генотипированы во всех 97 образцах, за исключением rs2072136, rs1293762 и rs15895, которые не выявлены в одном образце. Существенное отклонение распределения генотипов от равновесия Харди–Вайнберга отсутствовало у всех ОНП, за исключением rs1732778 ( $p < 0.05$ ). Частоты редких аллелей составляли: 0.309 для ОНП rs2285932 в гене *OAS3* (аллель Т); 0.313 для ОНП rs2072136 в гене *OAS3* (аллель А); 0.411 для ОНП rs1293762 в гене *OAS2* (аллель Т); 0.302 для ОНП rs15895 в гене *OAS2* (аллель А) и 0.361 для ОНП rs1732778 в гене *OAS2* (аллель А). Эти частоты соответствуют выявленным ранее частотам рассматриваемых аллелей в популяции жителей г. Новосибирска: 0.251, 0.294, 0.420, 0.281 и 0.273 соответственно (Barkhash et al., 2010).

Результаты анализа ассоциации ОНП в генах 2'-5'-олигоденилатсинтетаз с уровнем IgG против ВКЭ и ИЛ-4 представлены в таблице. Выработка антител в ответ на введение вакцины была достоверно ассоциирована с ОНП rs1732778 в регуляторном районе гена *OAS2* ( $p < 0.05$ ). Этот показатель у людей с гетерозиготным генотипом G/A оказался существенно выше, чем у пациентов с гомозиготными генотипами G/G и A/A ( $p < 0.01$ ). Индивидуальные носители аллеля А в составе генотипов G/A и A/A этого же ОНП имели сниженный уровень ИЛ-4 по сравнению с гомозиготными индивидами G/G ( $p < 0.004$ ). Причем эти различия сохранялись после введения поправки Бонферрони на множественные сравнения. ОНП rs15895 оказался ассоциированным с титрами ИЛ-4 на уровне тенденции ( $p < 0.06$ ). Тем не менее при попарном сравнении индивиды с гомозиготным генотипом A/A имели достоверно сниженный уровень ИЛ-4 по отношению к носителям аллеля G ( $p < 0.04$ ).

Ассоциация ОНП в генах 2'-5'-олигоденилатсинтетаз с уровнем IgG против ВКЭ (МЕ/мл) и ИЛ-4 (пг/мл) после вакцинации против клещевого энцефалита

Ген	Позиция	Район	ОНП	Генотип	Медиана*	25–75 % квантили	<i>p</i> **
IgG							
OAS3	112949145	Экзон 6, p.Ile438Ile	rs2285932	C/C ( <i>n</i> = 44)	221.5	156.0–260.0	0.846
				C/T ( <i>n</i> = 46)	219.0	101.0–260.0	
				T/T ( <i>n</i> = 7)	210.0	81.0–260.0	
OAS3	112961114	Экзон 8, p.Ser567Ser	rs2072136	G/G ( <i>n</i> = 43)	210.0	121.0–260.0	0.988
				G/A ( <i>n</i> = 46)	227.5	101.0–260.0	
				A/A ( <i>n</i> = 7)	216.0	39.0–260.0	
OAS2	112993031	Интрон 2	rs1293762	G/G ( <i>n</i> = 35)	191.0	71.0–245.0	0.412
				G/T ( <i>n</i> = 43)	237.0	145.0–260.0	
				T/T ( <i>n</i> = 18)	199.0	94.0–238.0	
OAS2	113010483	Экзон 10, p.Ter720Trp	rs15895	G/G ( <i>n</i> = 48)	198.0	110.5–255.0	0.859
				G/A ( <i>n</i> = 38)	236.0	101.0–260.0	
				A/A ( <i>n</i> = 10)	199.0	136.0–243.0	
OAS2	113019120	3'-область, 7397 п. н.	rs1732778	G/G ( <i>n</i> = 35)	191.0 <sup>a</sup>	90.0–260.0	<b>0.047</b>
				G/A ( <i>n</i> = 54)	235.5 <sup>b</sup>	169.0–260.0	
				A/A ( <i>n</i> = 8)	112.0 <sup>a</sup>	31.0–201.0	
ИЛ-4							
OAS3	112949145	Экзон 6, p.Ile438Ile	rs2285932	C/C ( <i>n</i> = 40)	9.89	4.47–15.65	0.835
				C/T ( <i>n</i> = 40)	10.06	5.36–15.21	
				T/T ( <i>n</i> = 5)	7.76	5.83–12.58	
OAS3	112961114	Экзон 8, p.Ser567Ser	rs2072136	G/G ( <i>n</i> = 37)	11.16	6.04–15.78	0.605
				G/A ( <i>n</i> = 40)	8.31	4.35–14.84	
				A/A ( <i>n</i> = 7)	10.0	4.56–14.28	
OAS2	112993031	Интрон 2	rs1293762	G/G ( <i>n</i> = 32)	9.21	5.83–15.21	0.926
				G/T ( <i>n</i> = 38)	10.52	4.39–14.40	
				T/T ( <i>n</i> = 14)	8.04	4.82–16.67	
OAS2	113010483	Экзон 10, p.Ter720Trp	rs15895	G/G ( <i>n</i> = 43)	8.42 <sup>a</sup>	4.39–14.28	<b>0.061</b>
				G/A ( <i>n</i> = 33)	13.67 <sup>a</sup>	8.09–16.67	
				A/A ( <i>n</i> = 8)	6.80 <sup>b</sup>	4.69–9.39	
OAS2	113019120	3'-область, 7397 п. н.	rs1732778	G/G ( <i>n</i> = 25)	14.40 <sup>a</sup>	7.76–16.80	<b>0.004</b>
				G/A ( <i>n</i> = 53)	8.42 <sup>b</sup>	4.56–12.46	
				A/A ( <i>n</i> = 7)	4.56 <sup>b</sup>	3.36–12.58	

\* Одинаковые буквы в надстрочных индексах показывают отсутствие достоверных различий величин медиан для разных генотипов по результатам *post hoc* теста Фишера.

\*\* Достоверность влияния генотипов ОНП по результатам оценки с помощью общей линейной модели.

## Обсуждение

Иммунный ответ на вакцину определяется множеством факторов, в том числе генетическими особенностями индивида. Идентификация генетических маркеров, которые регулируют развитие иммунного ответа, необходима для разработки индивидуального подхода к проведению профилактических вакцинаций (Медуницын, 2004). Установлено, что выработка специфических антител после введения вакцины в значительной степени контролируется генами, кодирующими белки главного комплекса

гистосовместимости, генами цитокинов и их рецепторов, генами Toll-подобных рецепторов и другими (Linnik, Egli, 2016). Однако генетические факторы, которые опосредуют иммунный ответ при вакцинации против инфекций, вызываемых флавивирусами, остаются практически неизученными. Имеется лишь одно сообщение о возникновении висцеротропной болезни у 64-летнего пациента с мутациями в генах хемокинового рецептора *CCR5* и его лиганда *RANTES* после введения ему аттенуированной вакцины против желтой лихорадки (Pulendran et al.,

2008). Раньше на использованной в нашей работе выборке была показана перспективность применения делеции в гене *CCR5* в качестве потенциального маркера успешной вакцинации против клещевого энцефалита в популяции русских Западной Сибири (Лутова и др., 2016).

В настоящей работе у русских жителей Новосибирска исследовали полиморфизм в пяти ОНП генов *OAS2* и *OAS*, для которых ранее на этой же популяции была найдена ассоциация с развитием тяжелых форм клещевого энцефалита (Barkhash et al., 2010). Насколько нам известно, это первая работа по изучению влияния ОНП-локусов в генах 2'-5'-олигоденилатсинтеза на выработку специфических антител после вакцинации против клещевого энцефалита. Для исключения возможного влияния посторонних генетических и средовых факторов выборку формировали преимущественно из молодых людей русской национальности, которые не подвергались укусам клещей или вакцинации против клещевого энцефалита, но длительно проживали в эндемичном по клещевому энцефалиту районе.

Частоты редких аллелей изученных ОНП в нашем исследовании соответствуют выявленным ранее частотам этих аллелей у русских жителей г. Новосибирска (Barkhash et al., 2010). Достоверное отклонение распределения генотипов от равновесия Харди–Вайнберга наблюдали только для ОНП rs1732778 в гене *OAS2*. Другие исследователи также выявили отклонение распределения генотипов от равновесия Харди–Вайнберга для ОНП rs1732778, rs2285932 и rs2072136 в выборках русских жителей г. Новосибирска, которые болели различными формами клещевого энцефалита (Barkhash et al., 2010). Поэтому причина отклонения распределения генотипов ОНП rs1732778 от равновесия Харди–Вайнберга в нашем исследовании, возможно, связана не с ошибками генотипирования, а с отсутствием панмиксии в исследованной популяции, хотя нельзя исключить также популяционную стратификацию и влияние отбора. Интересно, что при изучении семи этнических групп Северной Евразии наименьшие частоты генотипа G/G ОНП rs2072136 гена *OAS3*, ассоциированного с предрасположенностью к развитию тяжелых форм клещевого энцефалита, были выявлены у алтайцев, хакасов, тувинцев и шорцев, вероятно, интенсивно контактирующих с клещами в местах проживания (Бархаш и др., 2010). Авторы высказали предположение, что вирус клещевого энцефалита мог служить фактором отбора определенных вариантов генов *OAS* у центральноазиатских монголоидов.

Мы обнаружили ассоциацию ОНП rs1732778 в гене *OAS2* с уровнем IgG против ВКЭ после вакцинации от клещевого энцефалита (см. таблицу). Уровень антител у индивидов с гетерозиготным генотипом G/A был достоверно выше, чем у людей с гомозиготными генотипами G/G и A/A. Эффект превосходства гетерозигот над гомозиготами наблюдается довольно часто. Например, реакция клеточного иммунитета на коклюшный токсин и филаментозный гемагглютинин у субъектов с генотипом A/G ОНП rs1800896 в промоторе гена *IL-10* была достоверно выше, чем у субъектов с генотипами G/G и A/A (Gröndahl-Yli-Hannuksela et al., 2016). В литературе нами найдена лишь одна работа, посвященная изучению роли

генов *OAS* в регуляции иммунного ответа после вакцинации. I.H. Naralambieva с коллегами (2010) показали, что минорные аллели исследованного нами ОНП rs1732778 и ОНП rs2464288 в гене *OAS2* связаны с повышенным уровнем специфических антител после иммунизации против краснухи. ОНП rs1732778 ассоциирован с чувствительностью к вызываемым флавивирусами заболеваниями – клещевому энцефалиту (Barkhash et al., 2010) и лихорадке денге (Alagarasu et al., 2013; Thamizhmani, Vijayachari, 2014). Следует отметить, что ОНП rs1732778 находится на расстоянии 7397 п. н. от 3'-конца гена *OAS2* (UCSC Genome Browser Gateway, 2017). Не исключено, что непосредственное влияние на признак оказывает не этот ОНП, а другой, который находится с ним в неравновесии по сцеплению. На участке  $\pm 250$  тыс. п. н. в окрестностях ОНП rs1732778 на хромосоме 12 локализовано 11 генов (*RPH3A*, *OAS1*, *OAS3*, *OAS2*, *DTX1*, *RASAL1*, *CFAP73*, *DOX54*, *RIT1A1*, *IQCD*, *TPCN1*). Однако только 3 гена из этих 11, а именно гены 2'-5'-олигоденилатсинтеза (*OAS1*, *OAS2*, *OAS3*), участвуют в контроле иммунного ответа.

Наше исследование показывает, что ОНП rs1732778 в гене *OAS2* достоверно ассоциирован с уровнем ИЛ-4 после вакцинации против клещевого энцефалита. Этот результат усиливается тем, что ОНП rs15895, локализованный в экзоне 10 гена *OAS2* на расстоянии 8637 п. н. от ОНП rs1732778, также оказался ассоциированным с уровнем ИЛ-4 на уровне тенденции (см. таблицу). ИЛ-4 является важным регуляторным цитокином, который продуцируется тучными клетками, Th2-лимфоцитами, эозинофилами и базофилами (Gadani et al., 2012). ИЛ-4 влияет на активацию клеточного иммунитета Th2-типа (Zamogano et al., 2003), продукцию и секрецию IgE В-лимфоцитами (Geha et al., 2003) и альтернативную активацию макрофагов, которая отличается от классической провоспалительной активации (Gordon, 2003). Вследствие чрезвычайно низкого уровня ИЛ-4 после вакцинации против краснухи другие исследователи не выявили каких-либо ассоциаций ОНП в кластере генов *OAS* (Naralambieva et al., 2010). Роль ИЛ-4 в формировании гуморального иммунного ответа при вакцинации против клещевого энцефалита в настоящее время не ясна. Можно предположить, что врожденный противовирусный иммунитет, который регулируется генами семейства *OAS*, вовлечен в контроль премиривания лимфоцитов и, следовательно, модулирует структуру и амплитуду специфического (приобретенного) иммунного ответа на инактивированную вирусную вакцину.

В пользу такого предположения говорят результаты нескольких исследований. Из всего семейства генов *OAS* у человека *OAS2* имеет самый высокий уровень индукции интерферонами (Sanda et al., 2006). С использованием методов протеомики было показано существование физического взаимодействия между белками *OAS2* и NOD2 в линии клеток человека THP-1 (Dugan et al., 2009). Белок NOD2 принадлежит к семейству Nod1/Apa1-1, экспрессируется в лейкоцитах периферической крови и играет важную роль в иммунном ответе на бактериальные липополисахариды, связываясь с бактериальным мурамилдипептидом и активируя белок NFkB (Ogura et al., 2001). По-видимому, этот белок может участвовать также в фор-

мировании врожденного противовирусного иммунитета. Известно, что другой белок семейства NOD-подобных рецепторов – NLRP3 – способен взаимодействовать с вирусом гриппа типа А (Allen et al., 2009).

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что ОНП в регуляторной области гена *OAS2* (rs1732778) ассоциирован с образованием противовирусных антител IgG и уровнем ИЛ-4 после вакцинации против клещевого энцефалита. По-видимому, генетический полиморфизм в гене *OAS2* следует принимать во внимание при индивидуализации вакцинопрофилактики этого заболевания. Однако, ввиду ограниченного размера выборки, полученные нами результаты следует интерпретировать с осторожностью. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения этих ассоциаций в независимых популяционных выборках, а также анализ механизмов, посредством которых генетические варианты в генах 2'-5'-олигоденилатсинтетаз могут влиять на иммунный ответ после вакцинации против заболеваний, вызываемых флавивирусами.

### Благодарности

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-00127).

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы / References

Бархаш А.В., Бабенко В.Н., Кобзев В.Ф., Ромащенко А.Г., Воевода М.И. Полиморфизм генов 2'-5'-олигоденилатсинтетаз (OAS) человека, связанный с предрасположенностью к тяжелым формам клещевого энцефалита, в популяциях Северной Евразии. Молекуляр. биология. 2010;44:985-993. [Barkhash A.V., Babenko V.N., Kobzev V.F., Romashchenko A.G., Voevoda M.I. Polymorphism in the human 2'-5'-oligoadenylate synthetase genes (OAS), associated with predisposition to severe forms of tick-borne encephalitis, in populations from North Eurasia. *Molekulyarnaya Biologiya = Molecular Biology (Moscow)*. 2010;44:985-993. (in Russian)]

Билалова Г.П. Вопросы практического применения вакцины «Энцеви́р». Сиб. мед. журн. 2009;2:86-91. [Bilalova G.P. Issues of the practical use of Encevir vaccine. *Sibirskiy Meditsinskiy Zhurnal = Siberian Medical Journal*. 2009;2:86-91. (in Russian)]

ЗАО «Вектор-Бест». Реагенты для определения цитокинов. 2004. Доступно на <http://www.cytokines.ru/2004/4/Art12.php>. [Vector-Best Company. Reagents for cytokine analysis. 2004. Available at <http://www.cytokines.ru/2004/4/Art12.php>. (in Russian)]

Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит: руководство для врачей. Новосибирск: Гос. мед. академия МЗ РФ, 2001. [Ierusalimsky A.P. Tick-Borne Encephalitis: Manual for Physicians. Novosibirsk: State Medical Academy Publ., 2001. (in Russian)]

Лутова С.Л., Туманов Ю.В., Воевода М.И., Белявская В.А. Вакциномика клещевого вирусного энцефалита: оценка влияния генетических и физиологических факторов реактивности макроорганизма на функциональную активность специфических антител: Сб. статей науч.-практ. конф. Новосибирск, 2016;191-193. [Lutova S.L., Tumanov Yu.V., Voevoda M.I., Belyavskaya V.A. Tick-borne encephalitis and vaccines: genetic and physiological factors influencing the functional activity of specific antibodies. Proceedings of the Scientific and Practical Conference. Novosibirsk, 2016;191-193. (in Russian)]

Медунин Н.В. Вакцинология. М.: Триада-Х, 2004. [Medunin N.V. Vaccinology. Moscow: Triada-X Publ., 2004. (in Russian)]

Юдин Н.С., Бархаш А.В., Максимов В.Н., Игнатъева Е.В., Ромащенко А.Г. Генетическая предрасположенность человека к заболеваниям, вызываемым вирусами семейства Flaviviridae. Молекуляр. биология. 2018;52(2):190-209. [Yudin N.S., Barkhash A.V., Maksimov V.N., Ignatieva E.V., Romashchenko A.G. Human genetic predisposition to diseases caused by viruses from Flaviviridae family. *Molecular Biology (Moscow)*. 2018;52:165-181.]

Alagarasu K., Honap T., Damle I.M., Mulay A.P., Shah P.S., Cecilia D. Polymorphisms in the oligoadenylate synthetase gene cluster and its association with clinical outcomes of dengue virus infection. *Infect. Genet. Evol.* 2013;14:390-395. DOI 10.1016/j.meegid.2012.12.021.

Allen I.C., Scull M.A., Moore C.B., Holl E.K., McElvania-TeKippe E., Taxman D.J., Guthrie E.H., Pickles R.J., Ting J.P. The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA. *Immunity*. 2009;30:556-565.

Barkhash A.V., Perelygin A.A., Babenko V.N., Myasnikova N.G., Pilipenko P.I., Romashchenko A.G., Voevoda M.I., Brinton M.A. Variability in the 2'-5'-oligoadenylate synthetase gene cluster is associated with human predisposition to tick-borne encephalitis virus-induced disease. *J. Infect. Dis.* 2010;202(12):1813-1818. DOI 10.1086/657418.

Bigham A.W., Buckingham K.J., Husain S., Emond M.J., Boffending K.M., Gildersleeve H., Rutherford A., Astakhova N.M., Perelygin A.A., Busch M.P., Murray K.O., Sejvar J.J., Green S., Kriesel J., Brinton M.A., Bamshad M. Host genetic risk factors for West Nile virus infection and disease progression. *PLoS One*. 2011;6(9):e24745. DOI 10.1371/journal.pone.0024745.

Danial-Farran N., Eghbaria S., Schwartz N., Kra-Oz Z., Bisharat N. Genetic variants associated with susceptibility of Ashkenazi Jews to West Nile virus infection. *Epidemiol. Infect.* 2015;143:857-863. DOI 10.1017/S0950268814001290.

Dugan J.W., Albor A., David L., Fowlkes J., Blackledge M.T., Martin T.M., Planck S.R., Rosenzweig H.L., Rosenbaum J.T., Davey M.P. Nucleotide oligomerization domain-2 interacts with 2'-5'-oligoadenylate synthetase type 2 and enhances RNase-L function in THP-1 cells. *Mol. Immunol.* 2009;47(2-3):560-566. DOI 10.1016/j.molimm.2009.09.025. Epub 2009 Oct 23.

Gadani S.P., Cronk J.C., Norris G.T., Kipnis J. IL-4 in the brain: a cytokine to remember. *J. Immunol.* 2012;189:4213-4219. DOI 10.4049/jimmunol.1202246.

Geha R.S., Jabara H.H., Brodeur S.R. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat. Rev. Immunol.* 2003;3:721-732.

Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat. Rev. Immunol.* 2003;3:23-35.

Gröndahl-Yli-Hannuksela K., Vahlberg T., Ilonen J., Mertsola J., He Q. Polymorphism of IL-10 gene promoter region: association with T cell proliferative responses after acellular pertussis vaccination in adults. *Immunogenetics*. 2016;68:733-741. DOI 10.1007/s00251-016-0923-0.

Haralambieva I.H., Dhiman N., Ovsyannikova I.G., Vierkant R.A., Pankrat V.S., Jacobson R.M., Poland G.A. 2'-5'-Oligoadenylate synthetase single-nucleotide polymorphisms and haplotypes are associated with variations in immune responses to rubella vaccine. *Hum. Immunol.* 2010;71:383-391. DOI 10.1016/j.humimm.2010.01.004.

Hovanessian A.G., Justesen J. The human 2'-5'-oligoadenylate synthetase family: unique interferon-inducible enzymes catalyzing 2'-5' instead of 3'-5' phosphodiester bond formation. *Biochimie*. 2007;89:779-788.

Imran M., Manzoor S., Khattak N.M., Tariq M., Khalid M., Javed F., Bhatti S. Correlation of OAS1 gene polymorphism at exon 7 splice acceptor site with interferon-based therapy of HCV infection in Pakistan. *Viral Immunol.* 2014;27:105-111. DOI 10.1089/vim.2013.0107.

Kristiansen H., Gad H.H., Eskildsen-Larsen S., Despres P., Hartmann R. The oligoadenylate synthetase family: an ancient protein family with multiple antiviral activities. *J. Interferon Cytokine Res.* 2011;31:41-47. DOI 10.1089/jir.2010.0107.

- Lim J.K., Lisco A., McDermott D.H., Huynh L., Ward J.M., Johnson B., Johnson H., Pape J., Foster G.A., Krysztof D., Follmann D., Stramer S.L., Margolis L.B., Murphy P.M. Genetic variation in OAS1 is a risk factor for initial infection with West Nile virus in man. *PLoS Pathog.* 2009;5:e1000321. DOI 10.1371/journal.ppat.1000321.
- Linnik J.E., Egli A. Impact of host genetic polymorphisms on vaccine induced antibody response. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016;12:907-915. DOI 10.1080/21645515.2015.1119345.
- Ogura Y., Inohara N., Benito A., Chen F.F., Yamaoka S., Nunez G. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J. Biol. Chem.* 2001;276:4812-4818. DOI 10.1074/jbc.M008072200.
- Poland G.A., Kennedy R.B., Ovsyannikova I.G. Vaccinomics and personalized vaccinology: is science leading us toward a new path of directed vaccine development and discovery? *PLoS Pathog.* 2011;7:e1002344.
- Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M. Vaccine immunogenetics: bedside to bench to population. *Vaccine.* 2008;26:6183-6188.
- Pulendran B., Miller J., Querec T.D., Akondy R., Moseley N., Laur O., Glidewell J., Monson N., Zhu T., Zhu H., Staprans S., Lee D., Brinton M.A., Perelygin A.A., Vellozzi C., Brachman P. Jr., Lalor S., Teuwen D., Eidex R.B., Cetron M., Priddy F., del Rio C., Altman J., Ahmed R. Case of yellow fever vaccine – associated viscerotropic disease with prolonged viremia, robust adaptive immune responses, and polymorphisms in CCR5 and RANTES genes. *J. Infect. Dis.* 2008;198:500-507. DOI 10.1086/590187.
- Sambrook J., Russell D.W. The condensed protocols from Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2006.
- Sanda C., Weitzel P., Tsukahara T., Schaley J., Edenberg H.J., Stephens M.A., McClintick J.N., Blatt L.M., Li L., Brodsky L., Taylor M.W. Differential gene induction by type I and type II interferons and their combination. *J. Interferon Cytokine Res.* 2006;26:462-472.
- Thamizhmani R., Vijayachari P. Association of dengue virus infection susceptibility with polymorphisms of 2'-5'-oligoadenylatesynthetase genes: a case-control study. *Braz. J. Infect. Dis.* 2014;18:548-550.
- UCSC Genome Browser Gateway. 2017. Available at [http://genome-euro.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?hgsid=225788287\\_h9nI4Rnx-WsBd3VHZFA16jALan0UJ](http://genome-euro.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?hgsid=225788287_h9nI4Rnx-WsBd3VHZFA16jALan0UJ).
- Valarcher J.F., Hägglund S., Juremalm M., Blomqvist G., Renström L., Zohari S., Leijon M., Chirico J. Tick-borne encephalitis. *Rev. Sci. Tech.* 2015;34:453-466.
- Yakub I., Lillibridge K.M., Moran A., Gonzalez O.Y., Belmont J., Gibbs R.A., Tweardy D.J. Single nucleotide polymorphisms in genes for 2'-5'-oligoadenylatesynthetase and RNase L in patients hospitalized with West Nile virus infection. *J. Infect. Dis.* 2005;192:1741-1748.
- Zamorano J., Rivas M.D., Pérez M. Interleukin-4: A multifunctional cytokine. *Immunologia.* 2003;22:215-224.