Хепатит Дельта Вирусийн эпитоп ба нуклеотидийн өөрмөц байдал

М.Баттөр[1] , А. Валкер[2], И.Тимм[2], Ч Баттогтох[1,3]
1. Бичил амь судлал, Халдварын сэргийлэлт хяналтын тэнхим, БАС-АШУҮИС
2. Хенрих Хайнагийн их сургууль, Вирусологийн институт
3. Био-Анагаахын Хүрээлэн АШУҮИС
battur@mnums.edu.mn
утас: 99223877

Түлхүүр үг:
Дархлааны хариу урвалаас зайлсхийх, HLA -1, dN (nonsynomous)

Товч утга

ХДВ-ийн 8 хэв шинжээс хамгийн түгээмэл тархсан нь ХДВ-1 юм. ХДВ-ийн нуклеотидын дараалалд гарсан зарим мутацийн үр дүн нь дархлааны урвалаас булталн зайлах нөхцөл бүрдүүлдэг. Хүний HLA аллел нь хамгийн өндөр полиморф шинжтэй ген бөгөөд ХДВ-ийн хэв шинжийн тархалт улс орон бүрт харилцан адилгүй байгаа нь бид өөрийн орны нөхцөлд энэхүү судалгааг хийх үндэслэл боллоо. Монгол хүн амаас ялгасан ХДВ-ийн популяцид HLA-I ангийн молекулаар илчлэгдэх боломжит эпитопийг тодорхойлж, эпитопийн бүсд dN ба dS мутацийг илрүүлэхийг зорилоо.

Монгол хүн амаас ялгасан ХДВ-ийн 132 шинжлэгдэхүүнд нуклеотидийн дараалал тогтоох шинжилгээний дүнгээр ХДВ-1-р хэв шинжийн 4 дэд хэв шинж илэрсэн. Эдгээр дэд хэв шинжийн 2 нь 1c ба 1d бүлэгт хамаарагдаж байсан бол бусад 2 бүлэг нь шинэ дэд бүлэг байв. ХДВ-ийн нуклеотидийн 30 байршилд dN, 60 байрлал дээр dS мутацийг илэрлээ. HLA-I ангийн 85 молекул тогтоож, ХДВ-ийн эпитопийг тодорхойлоход HLA-I ангийн 35 молекул ХДВ-ийн эпитопийг илчлэх боломжтой байв. HLA-B*27:05 (49 эпитоп), HLA-B*41:01 (26 эпитоп), HLA-C*03:03 (22 эпитоп), HLA-B*55:02 (19 эпитоп), HLA-A*68:01 (15 эпитоп) тус бүр илчлэх боломжтойг тогтоолоо. Харин HLA-A*01:01, HLA-A*11:01, HLA-A*:02:07 молекулууд тус бүр 1-2 эпитоп илчлэх боломжтой байв.

ХДВ-ийн эпитопийг илчлэх хамгийн өндөр боломжит HLA-B*27:05 молекул байна. Эпитопийн бүсд үүссэн dN мутаци нь дархлааны хариу урвалаас зайлсхийх нөхцлийг бүрдүүлж байна. Хүний HLA аллел нь хамгийн өндөр полиморф шинжтэй ген бөгөөд ХДВ-ийн хэв шинжийн тархалт улс орон бүрт харилцан адилгүй байгаа нь бид өөрийн орны нөхцөлд энэхүү судалгааг хийх үндэслэл боллоо.

Үндэслэл

ХДВ нь РНХ агуулсан, ХБВ-ийн гадаргуугийн бүрхүүлээр бүрхэгдсэн өөрмөц вирус юм. ХДВ нь элэгний архаг халдварт өвчин үүсгэх ба элэгний хавдар, хатуурал үүсгэдэг[1]. Монгол улсад ХДВ-ийн тархалт нь бусад орнуудтай харьцуулахад маш өндөр байдаг[1-3]. ХДХВ. ХЦВ, ХБВ зэрэг архаг халдварууд нь эпитопийн бүсд мутацид орж дархлааны хариу урвалаас зайлсхийдэг нь сүүлийн үеийн судалгааны ажлуудад дурдсан байна[3]. ХДВ-ийн аминхүчлийн дараалалд гарсан мутаци нь дархлааны хариу урвалаас зайлсхийх нөхцөлийг бүрдүүлж болох юм[4]. ХДВ-ийн 8 хэв шинжээс хамгийн түгээмэл тархсан нь ХДВ-1 ба ХДВ-1 хэд шинж нь дотроо 5 дэд бүлд хуваагддаг[5].

Зорилго

Монгол хүн амаас ялгасан ХДВ-ийн популяцид HLA-I ангийн молекулаар илчлэгдэх боломжит эпитопийг тодорхойлж, эпитопийн бүсэд *dN* ба *dS* мутацийг илрүүлэх

Зорилт

1. Судалгаанд хамруулсан хүн амаас ялгасан ХДВ-ийг ялган, LHDAg генийн дараалал тогтоох
2. ХДВ-ийн генийн шинжилгээнд дүн шинжилгээ хийх

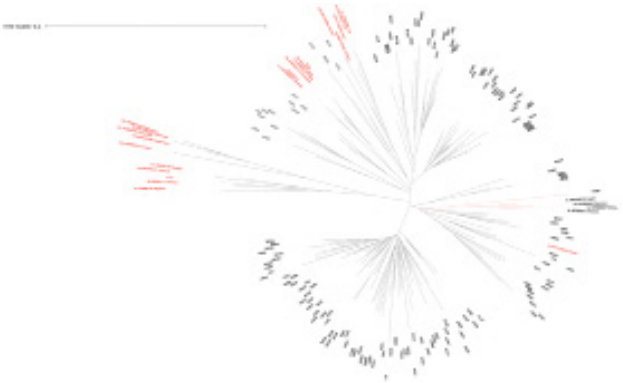
Арга зүй.

8 аймгийн aHDV эерэг 281 хүмүүсийн шинжлэгдэхүүнд ХДВ-ийн нуклоетидийн дараалал тогтоох шинжилгээг “Sanger sequence”. ХДВ-ийн филогенетикийн модыг mrBayes[6] программаар, GTR модел, MCMC 20 000 000, өгөгдлөөр зурсан.

HLA-I ангийн молекулыг 215 шинжлэгдэхүүнд “MiSeq NGS” шинжилгээний аргаар тогтоосон. ХДВ-ийн вирусийн *dN* ба *dS* сонголтыг SLAC[7] программаар тогтоосон. ХДВ-ийн эпитопийг mhcflurry_2.0.6[8] программаар тодорхойлсон.

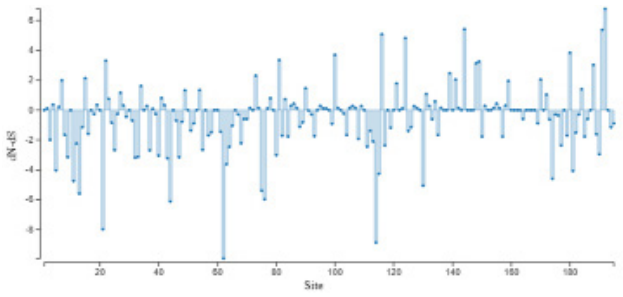
Үр дүн

Монгол хүн амаас ялгасан ХДВ-ийн 131 шинжлэгдэхүүнд нуклеотидийн дараалал тогтоох шинжилгээний дүнгээр ХДВ-1-р хэв шинжийн 4 дэд хэв шинж илэрсэн (Зураг 1). 1c ба 1d бүлэгт хамаарагдаж байсан бол бусад 2 бүлэг нь шинэ дэд бүлэг байв. Эдгээр 4 дэд зүйлүүдэд шинжлэгдэхүүн цуглуулсан аймаг, сумдын ялгарал ажиглагдаагүй. Өөрөөр хэлбэл ХДВ-ийн дэд хэв шинжийн тархалт бүс нутгуудад ижил тархсан байв.



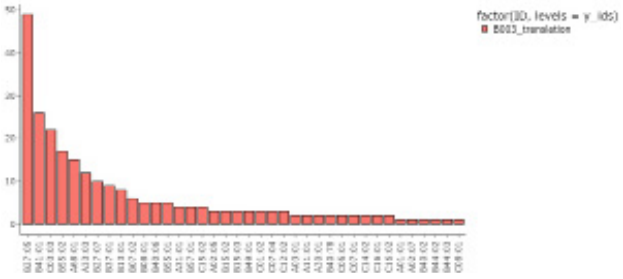
Зураг 1. *ХДВ-ийн филогенетикийн мод. Улаан өнгөөр лавламж нуклеотидийн дарааллыг тэмдэглэв. Монгол улсад тархсан ХДВ-ийг хар өнгөөр тэмдэглэв.*

ХДВ-ийн нуклеотидийн 30 байршилд *dN*, 60 байрлал дээр *dS* мутац илэрсэн (Зураг 2).



Зураг 2. *ХДВ-ийн нуклеотидийн дараалалд dN ба dS мутац. Нэмэх утга уруу dN мутац, хасах утга уруу dS мутацийн тохиодлын тоог харуулсан.*

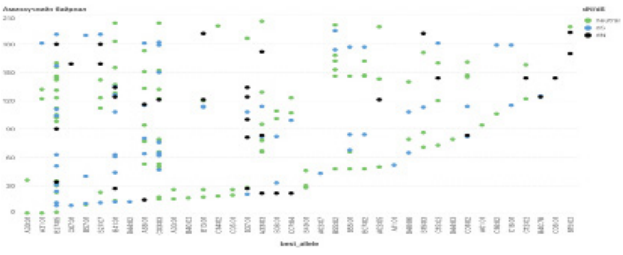
HLA-I ангийн 85 молекул тогтоож, ХДВ-ийн эпитопийг тодорхойлоход HLA-I ангийн 35 молекул ХДВ-ийн эпитопийг илчлэх боломжтой байв. HLA-B*27:05 (49 эпитоп), HLA-B*41:01 (26 эпитоп), HLA-C*03:03 (22 эпитоп), HLA-B*55:02 (19 эпитоп), HLA-A*68:01 (15 эпитоп) тус бүр илчлэх боломжтойг тогтоолоо. Харин HLA-A*01:01, HLA-A*11:01, HLA-A*:02:07 молекулууд тус бүр 1-2 эпитоп илчлэх боломжтой байв. (Зураг 3).



Зураг 3. *ХДВ-ийн эпитопийг илчлэх боломжтой HLA аллел. Босоо тэнхлэгт эптопийн тоо, хэвтээ тэнхлэгт HLA аллелийг харуулав.*

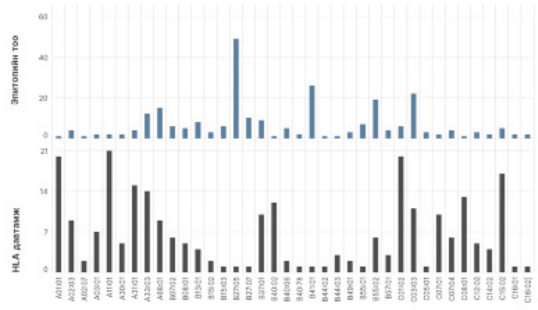
Сонирхолтой нь монгол хүн амын дунд хамгийн өндөр тархсан HLA*A24:02, HLA*A02:01, HLA*B51:01, HLA*B58:01, HLA*C06:02, HLA*C03:04 аллелууд ХДВ-ийн эпитоптийг илчлэх боломжгүй байв.

HLA аллел бүр дэх илчлэх боломжтой эпитоп нь өвөрмөц HLA аллелд ичлэгдэх боломжтой байсан ба нэг эпитопийг хоёр өөр HLA аллел илчлэх боломжүй байв. HLA аллел өвөрмөц эпитоп ба ХДВ-ийн *dN* мутацийг нэгтэгж үзэхэд 36 амин хүчлийн байрлал дээр амин хүчил өөрчлөгдсөн *dN* мутац илэрч байлаа (Зураг 4).



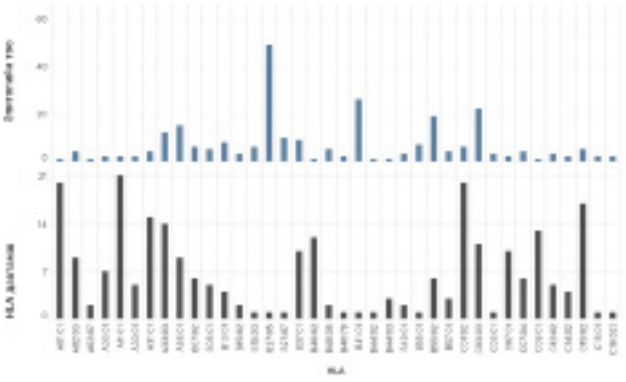
Зураг 4. *ХДВ-ийн эпитопийн бүс дэх мутац. Босоо тэнхлэгт амин хүчлийн байрлал, хэвтээ тэнхлэгт HLA аллел, хар өнгөөр dN мутаци, хөх өнгөөр dS мутац, ногоон өнгөөр neutral мутацийг тодорхойлов.*

ХДВ-ийн 75-150 дах амин хүчлийн дараалалд 19, 1-50 дах амин хүчлийн дараалалд 9, 150-180 дах аминхүчлийн байралд 6 *dN* мутац илэрлээ. Харин 50-75 дахь амин хүчлийн байрлал дээр dN мутац илрээгүй бөгөөд энэ бүсэд 47 эпитоп илчлэгдэх боломжтой байв (Зураг 5).



Зураг 5. *Эпитоп ба dN мутац. Босоо тэнхлэгт амиин хүчлийн байрлал, хэвтээ тэнхлэгт HLA аллел, амин хүчлийн байрлалыг тоогоор тэмдэглэв.*

HLA аллелийн популяци дах давтамж ба ХДВ-ийн эпитопийн тоо нь урвуу хамааралтай байсан бөгөөд хүн амын дунд хамгийн бага давтамжтай HLA аллел хамгийн олон ХДВ-ийн эпитопийг илчлэх боломжтой байсан ба харин хүн амын дунд хамгийн өндөр давтамжтай HLA аллел хамгийн цөөн ХДВ-ийн эпитопийг илчэлж байв (Зураг 6.).



Зураг 6. *HLA аллелийн давтамж ба эпитопийн тоо. HLA аллелийн харгалзах баганын дээд хэсэгт ХДВ-ийн илчлэх боломжтой эпитопийн тоо, доод баганад HLA аллелийн популяцийн давтамжийг харууллаа.*

Хэлцэмж

Монгол улсад тархсан ХДВ генотипийн хувьд өмнө хийгдэж байсан судлагааны ажлын үр дүнтэй адил буюу ХДВ-1 хэд шинж тархсан байна[9]. Сүүлийн үед ХДВ-1 хэв шинжийг дотор нь 5 дэд бүлэг (1a-e) болгон хуваах болсон[5,10] ба бидний судалгаанд 1c, 1d дэд бүлэг илэрсэн ба бусад 2 бүлэг нь шинэ дэд бүлэг байж болох юм. ХДВ-1c нь Хятад болон Зүүн Азийн Вьетнам, Япон зэрэг оронд өргөн тохиолддог бол 1d нь Иран, Турк зэрэг оронд тархсан байдаг.

Хади нарын судалагаанд HLA*B:27 аллелтай хүмүүст ХДВ-ийн 100-109 дахь аминхүчлийн дараалалд мутац болсноор эпитоп илчлэх боломжгүй байгааг дурдсан байна[11]. Түүнчлэн HLA*B:27 аллел ХДХВ, Томуугийн вирус, ЭБВ зэрэг олон вирусийн халдварын үед эпитопийг илчилдэг[12]. Энэ нь HLA*B-27 аллел вирусын халдварын үед эпитоп илчлэх магадлал хамгийн өндөр аллел болохийг харуулж байна.

Бидний өмнөх судалгаанд 45 HLA хамааралт вирусийн дархлааны зайлсхийх мутацийг илрүүлсэн бөгөөд үүнээс HLA-B*37, HLA-A*68, HLA-A*33 аллел хамааралт мутац хамгийн их тохиолдох боломжтойг тогтоосон[4]. Харин энэ удаагийн судалгааны үр дүнгээс харахад HLA-B*37, HLA-A*33 аллелуудын эпитопийн бүс дэх мутац нь дээрх судалгааны ажилтай адилхан, харин HLA-A*68 (81,172 дахь аминхүчил) дээр өөр байв. Энэ нь эпитопийн бүс дэх dN мутацийг тодорхойлохдоо ХДВ-ийн популяцийн дунд давамгайлж буй мутацийг илрүүлсэнтэй холбоотой байж болох юм. Өөрөөр хэлбэл өмнөх судалгаанд дурдсан HLA-A*68 хамааралт мутац нь монгол хүн амын дунд эргэлдэж буй ХДВ-ийн популяцид dS мутацаас бага байгааг харуулж байна. Энэ нь *dN* ба *dS* мутацийг илрүүлэх тооцоололтой холбоотой юм.

Дүгнэлт

ХДВ-ийн эпитопийг илчлэх хамгийн өндөр боломжит HLA-B*27:05 молекул байна. Эпитопийн бүсд үүссэн dN мутаци нь дархлааны хариу урвалаас зайлсхийх нөхцөлийг бүрдүүлж байна.

НОМ ЗҮЙ

1. *Rizzetto, M. The adventure of delta. Liver Int. (2016) 36:135–40. doi: 10.1111/liv.13018*
2. *Stockdale, AJ, Kreuels, B, Henrion, MYR, Giorgi, E, Kyomuhangi, I, de Martel, C, et al. The global prevalence of hepatitis D virus infection: Systematic review and meta-analysis. J Hepatol. (2020) 73:523–32. doi: 10.1016/j.jhep.2020.04.008*
3. *Takahashi, M, Nishizawa, T, Gotanda, Y, Tsuda, F, Komatsu, F, Kawabata, T, et al. High prevalence of antibodies to hepatitis A and E viruses and viremia of hepatitis B, C, and D viruses among apparently healthy populations in Mongolia. Clin Diagn Lab Immunol. (2004) 11:392–8. doi: 10.1128/cdli.11.2.392-398.2004*
4. *Magvan B, Kloeble AA, Ptok J, Hoffmann D, Habermann D, Gantumur A, Paluschinski M, Enebish G, Balz V, Fischer JC, Chimeddorj B, Walker A and Timm J (2023) Sequence diversity of hepatitis D virus in Mongolia. Front. Med. 10:1108543. doi: 10.3389/fmed.2023.1108543*
5. *Karimzadeh, H, Usman, Z, Frishman, D, and Roggendorf, M. Genetic diversity of hepatitis D virus genotype-1 in Europe allows classification into subtypes. J Viral Hepat. (2019) 26:900–10. doi: 10.1111/jvh.13086*
6. *Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D.L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M.A. Suchard, and J.P. Huelsenbeck. 2012. MRBAYES 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. Syst. Biol. 61:539-542.*

7. *Sergei L. Kosakovsky Pond and Simon D. W. Frost (2005) Not So Different After All: A Comparison of Methods for Detecting Amino Acid Sites Under Selection Molecular Biology and Evolution 22(5): 1208-1222*
8. *T. J. O’Donnell, et al. “MHCflurry 2.0: Improved pan-allele prediction of MHC I-presented peptides by incorporating antigen processing,” Cell Systems, 2020. doi. org/10.1016/j.cels.2020.06.010*
9. *Tsatsralt-Od, B, Takahashi, M, Endo, K, Agiimaa, D, Buyankhuu, O, Ninomiya, M, et al. Prevalence of hepatitis B, C, and delta virus infections among children in Mongolia: progress in childhood immunization. J Med Virol. (2007) 79:1064–74. doi: 10.1002/jmv.20867*
10. *Le Gal, F, Badur, S, Hawajri, NA, Akyuz, F, Kaymakoglu, S, Brichler, S, et al. Current hepatitis delta virus type 1 (HDV1) infections in central and eastern Turkey indicate a wide genetic diversity that is probably linked to different HDV1 origins. Arch Virol. (2012) 157:647–59. doi: 10.1007/s00705-011-1212-8*
11. *Karimzadeh H, Kiraithe MM, Kosinska AD, Glaser M, Fiedler M, Oberhardt V, Salimi Alizei E, Hofmann M, Mok JY, Nguyen M, van Esch WJE, Budeus B, Grabowski J, Homs M, Olivero A, Keyvani H, Rodríguez-Frías F, Tabernero D, Buti M, Heinold A, Alavian SM, Bauer T, Schulze Zur Wiesch J, Raziorrouh B, Hoffmann D, Smedile A, Rizzetto M, Wedemeyer H, Timm J, Antes I, Neumann-Haefelin C, Protzer U, Roggendorf M. Amino Acid Substitutions within HLA-B*27-Restricted T Cell Epitopes Prevent Recognition by Hepatitis Delta Virus-Specific $CD8^+$ T Cells. J Virol. 2018 Jun 13;92(13):e01891-17. doi: 10.1128/JVI.01891-17. PMID: 29669837; PMCID: PMC6002722.*
12. *McMichael A, Bowness P. HLA-B27: natural function and pathogenic role in spondyloarthritis. Arthritis Res. 2002;4 Suppl 3(Suppl 3):S153-8. doi: 10.1186/ar571. Epub 2002 May 9. PMID: 12110134; PMCID: PMC3240147.*

Hepatitis Delta Virus Epitope and Nucleotide Specificity

Battur Magvan1, Andreas Walker2, Jörg Timm2, Battogtokh Chimeddorj1, 3
1.Department of Microbiology and Infection Prevention and Control, MNUMS
2.Institute of Virology, University Hospital Dusseldorf, Germany
3.Institute of Biomedical Sciences, MNUMS
battur@mnums.edu.mn, tel: 99223877

We aimed to determine the potential epitope revealed by HLA-I class allels in the HDV population isolated from the Mongolian population and to detect dN and dS mutations in the epitope region.

According to the results of nucleotide sequencing analysis, 4 subtypes of HDV-1 type were found in 132 HDV samples isolated from the Mongolian population. Two of these subtypes belonged to groups 1c and 1d, while the other two groups were new subtypes. dN mutations were detected at 30 nucleotide positions in HDV. However, dS mutation was detected at 60 positions. 85 molecules of the HLA-I class were determined and HDV epitopes were determined, and 35 molecules of the HLA-I class could reveal the epitopes of HDV. HLA-B*27:05 (49 epitopes), HLA-B*41:01 (26 epitopes), HLA-C*03:03 (22 epitopes), HLA-B*55:02 (19 epitopes), and HLA-A*68:01 (15 epitopes) were determined to reveal each. However, HLA-A*01:01, HLA-A*11:01, and HLA-A*:02:07 molecules could reveal 1-2 epitopes each.

The HLA-B*27:05 molecule has the highest potential to reveal HIV epitopes. A Nonsynonymous mutation in the epitope region creates conditions for evasion of the immune response.

СУВИЛАХУЙН СУРГУУЛЬ
Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль
1942

ЭРДМИЙН ЧУУЛГАН 65

СУВИЛАХУЙН САЛБАР ХУРАЛДААН

