

ИММУНОДОМИНАНТНЫЕ АНТИГЕНЫ ТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ

Сокращения: ТМБ — туберкулезные микобактерии

Антиген Rv2031c

Цитозольный регуляторный антиген с молекулярной массой 16 кД. Является одним из факторов вирулентности микобактерий комплекса *M. tuberculosis*, поскольку обеспечивает выживание этих бактерий в организме хозяина, особенно в латентный период инфекции [12]. На экспоненциальной стадии роста ТМБ этот белок не экспрессируется — он появляется только в стационарный период [13]. Недостаток кислорода, питательных веществ, закисление среды и накопление в ней токсичных продуктов негативно сказываются на образовании Rv2031c [14]. Штаммы, лишенные гена *rv2031c* не способны расти в макрофагах [15]. Иммуноглобулины индуцируют образование специфических антител (преимущественно IgG, IgA, в меньшей степени - IgM). Изучали возможность применения этого антигена для серологической диагностики туберкулеза как самостоятельно [16], так и в комбинации с другими антигенами ТМБ. Шотландская компания OmegaDiagnostics Ltd выпускает для серологической диагностики туберкулеза коммерческий набор Pathozyme TB complex на основе комплекса антигенов Rv2031c и 38 кД [6]. Имеются основания считать антиген Rv2031c одним из основных иммуногенных факторов ТМБ в латентный период их инфекции [17].

MTV81 (Rv1837c)

Антиген MTV81 — протеин, проявляющий малай-синтазную активность. Имеет молекулярную массу 88 кД. Индуцирует сильный иммунный ответ у больных туберкулезом [4], в т.ч., как показали исследования, проведенные в США, Индии, Уганде, ЮАР и Бразилии, при смешанном течении туберкулеза и СПИДа [9].

ESAT-6 (Rv3875)

Этот антиген нашел применение для иммунологической диагностики инфекции ТМБ как индуктор синтеза гамма-интерферона сенсибилизированными лимфоцитами. Имеет молекулярную массу ниже, чем остальные антигены ТМБ, культивируемых *in vitro* [5]. Принимает участие в обеспечении жизнеспособности и распространении ТМБ *in vivo* [18]. Экспрессируется на ранней стадии инфекции. В экспериментах, проведенных на мышах, выявлена его протективная активность. Антитела к нему присутствуют в сыворотке крови большинства инфицированных ТМБ пациентов. У 90% экспериментально зараженных ТМБ макак с характерными поражениями в легких выявлены антитела к ESAT-6 [19]. В ранних экспериментах установлено, что антитела к нему ассоциированы не с наличием самих поражений, а с риском развития таковых. Как следствие, их можно считать маркером латентной инфекции ТМБ [10]. Однако, результаты исследований, проведенных в Эфиопии [17] свидетельствуют об обратном: титр антител к ESAT-6 повышается по мере прогрессирования болезни.

Комплекс 85B (Rv1886c)

Представляет собой комплекс антигенов Ag85A, Ag85B, Ag85C и Ag85D, являющийся основной антигенной фракцией фильтрата культур ТМБ [20]. Обладает миколит-трансферазной активностью, необходимой для синтеза корд-фактора [22]. Антиген Ag85B с молекулярной массой 30 кД (так называемый а-антиген) появляется в культурах ТМБ уже через 3 дня после засева сред и является основной фракцией секретируемых антигенов ТМБ [20]. Серологические тесты на его основе позволяют диагностировать 41-94% случаев инфекции ТМБ, в т.ч. и осложненной СПИД [16]. Комплекс Ag85 проявляет высокую перекрестную реактивность с антигенами практически всех микобактерий [20]. Этим можно объяснить высокий процент неспецифических показаний серологических тестов, проводимых с его применением. Значительно специфичнее (до 70%) тесты, проводимые с одним только антигеном Ag85D (MPT51), имеющим молекулярную массу 27 кД [23]. Изучается возможность его применения для серологической диагностики туберкулеза, протекающего на фоне ВИЧ-инфекции.

Rv0455c

Антиген с молекулярной массой 14 кД, присутствующий в фильтрате культур ТМБ. Антитела к нему выявляют у большинства инфицированных ТМБ людей с отрицательной кожной пробой. Сероконверсия к нему ассоциирована в большей степени с хроническим латентным течением инфекции [11], чем с прогрессированием патологического процесса. В нескольких экспериментах показана возможность диагностики с его помощью туберкулезного менингита по исследованию спинномозгового ликвора [24].

MPT32 (DPEP)

MPT32 (DPEP) активно секретируемый культурами *M. tuberculosis* фильтруемый антиген [21], гомологичный фибронектин-связывающему антигену *M. leprae* [25]. Процесс его секреции ТМБ начинается на ранней стадии инфекции и продолжается до образования каверн в легких [7, 8]. Антитела к нему выявляют у большей части инфицированных ТМБ людей, в т.ч. у больных СПИД [8, 26].

A60

Иммунодоминантный, термостабильный фильтруемый компонент культур штамма БЦЖ *M. bovis* и *M. tuberculosis* [27]. Используется для производства наборов для иммуноферментного (Anda Biologicals, Strasbourg, France) и иммунохроматографического (Novamed, Израиль) тестов. Чувствительность и специфичность этих тестов варьирует от 36 до 91% и от 68 до 98%, соответственно [1, 2]. Они проявляют недостаточно высокую чувствительность при туберкулезе детей и его внелегочных формах [2]. Имеются сообщения о возможности дифференцировать с помощью антигена A60 активную форму туберкулеза от латентной инфекции и поствакцинальной реакции [2]. Антитела к нему обнаруживают в сыворотке крови [2], слюне [28], спинномозговом ликворе [29, 30], плевральном выпоте [31] и бронхо-альвеолярных смывах [32]. Однако данный антиген неспецифичен для микобактерий — он дает перекрестные реакции с нокардиями и коринебактериями, что снижает специфичность тестов на его основе [33]

ТВ9.7, ТВ15.3, ТВ16.3 и ТВ51

Это новая группа антигенов ТМБ, проявляющая почти такую же диагностическую ценность при туберкулезе, как и антиген с молекулярной массой 38 кД. Их рекомбинантные аналоги испытывали для серологической диагностики туберкулеза: чувствительность тестов составляла 31-93%, а специфичность — 97% [34]. Наибольшую диагностическую ценность при туберкулезе имеет обнаружение антител к антигену ТВ16.3, а при его смешанном течении с ВИЧ-инфекцией — его сочетание с антигеном ТВ9.7.

Гепаринсвязывающий гемагглютинирующий адгезин (НВНА, Rv0475)

Это поверхностный антиген ТМБ, принимающий участие в прикреплении микобактерий к эпителиальным клеткам [35] и ответственный за распространение ТМБ за пределы респираторного тракта [36]. Экспрессируется всеми ТМБ [35], но отсутствует у непатогенного *M. smegmatis* [37]. У клинически здоровых инфицированных ТМБ людей иммунный ответ к Rv0475 носит преимущественно клеточный (Th1) характер, а на активной стадии болезни к нему происходит сероконверсия [38]. Иммунитет к антигену носит протективный характер и по эффективности близок к создаваемому вакциной БЦЖ.

Антигены РЕ и РРЕ

Свои названия эти антигены получили в соответствии с аминокислотной последовательностью (РЕ = пролин – глютамин; РРЕ = пролин – глютамин) их N-терминального конца молекулы. О существовании этих антигенов узнали после полной расшифровки генома *M. tuberculosis*, хотя на долю только протеинов РРЕ приходится около 10 % последнего. Ряд антигенов РРЕ индуцируют сильные гуморальный и клеточный иммунные ответы к *M. tuberculosis* [39]. Антитела к антигену РРЕ55 (Rv3347с), имеющий молекулярную массу 309 кД, присутствуют в крови инфицированных ТМБ пациентов, но вакцина БЦЖ их не индуцирует [40]. Антиген Rv1759с из группы РЕ экспрессируется только *in vivo*, но в культурах ТМБ отсутствует [41]. В настоящее время в ряде лабораторий изучают возможность использования этих антигенов для вакцинации и серологической диагностики. Антиген The Rv3872 из группы РЕ признан подходящим для серологической диагностики туберкулеза: чувствительность проводимого с его

применением иммуноферментного теста составила при легочной и внелегочных формах туберкулеза 94 и 90% соответственно, а специфичность в обоих случаях оценена в 95% [42]. Полученные данные нуждаются в подтверждении на больших группах пациентов с различными проявлениями туберкулеза.

Липоарабиноманнан

Полисахаридный антиген, на долю которого приходится 40% клеточной стенки ТМБ. Антитела к нему обнаруживают в иммуноферментном тесте (Мусо-Dot ТМ, DynaGen, США) в 72...89% случаев туберкулеза при специфичности показаний 90...100%. Однако, чувствительность теста существенно снижалась при исследовании лиц со смешанной туберкулезной и ВИЧ-инфекцией и внелегочными формами туберкулеза [2].

Трегалозосодержащие гликолипиды

Наиболее изученная группа гликолипидов ТМБ. Включает 2,3-диацилтрегалозу (ДАТ); 2,3,6-триацилтрегалозу (ТАТ); 2,3,6,6-тетраацилтрегалозу 2-сульфат (сульфолипид-I) и трегалозу 6,6-димиколат (корд-фактор). Частота обнаружения в ИФА антител к трегалозосодержащим гликолипидам переменна [43], а чувствительность теста при использовании антигенов ДАТ и ТАТ колеблется от 11 до 88 и от 51 до 93% соответственно. Чувствительность и специфичность теста, проводимого с применением сульфолипида-I, при выявлении специфических IgG, IgA и суммарно обоих типов антител составляет 81 и 77,6%; 66 и 87% и 93,7 и 67,5%, соответственно [4].

Библиография

1. Garg S.K., Tiwari R.P., Tiwari D. et al. Diagnosis of tuberculosis: available technologies, limitations, and possibilities. *J Clin Lab Anal*, 2003, 17, 155–163.
2. Chan E.D., Heifets L., Iseman M.D. Immunologic diagnosis of tuberculosis: a review. *Tuber Lung Dis*, 2000, 80, 131–140.
3. Andersen P., Munk M.E., Pollock J.M. et al. Specific immunebased diagnosis of tuberculosis. *Lancet*, 2000, 356, 1099–1104.
4. Laal S., Samanich K.M, Sonnenberg M.G. et al. Surrogate marker of preclinical tuberculosis in human immunodeficiency virus infection: antibodies to an 88-kDa

- secreted antigen of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis*, 1997, 176, 133–143.
5. Malen H., Berven F.S., Fladmark K.E., Wiker H.G. Comprehensive analysis of exported proteins from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Proteomics*, 2007, 7, 1702–1718.
 6. Demkow U., Zielonka T.M., Nowak-Misiak M. et al. Humoral immune response against 38-kDa and 16-kDa mycobacterial antigens in bone and joint tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2002, 6, 1023–1028.
 7. Houghton R.L., Lodes M.J., Dillon D.C. et al. Use of multiepitope polyproteins in serodiagnosis of active tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, 9, 883–891.
 8. Samanich K.M., Keen M.A., Vissa V.D. et al. Serodiagnostic potential of culture filtrate antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2000, 7, 662–668.
 9. Hendrickson R.C., Douglass J.F., Reynolds L.D. et al. Mass spectrometric identification of mtb81, a novel serological marker for tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 2000, 38, 2354–2361.
 10. Silva V.M., Kanaujia G., Gennaro M.L., Menzies D. Factors associated with humoral response to ESAT-6, 38 kDa and 14 kDa in patients with a spectrum of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2003, 7, 478–484.
 11. Jackett P.S., Bothamley G.H., Batra H.V. et al. Specificity of antibodies to immunodominant mycobacterial antigens in pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 1988, 26, 2313–2318.
 12. Wayne L.G. Dormancy of *Mycobacterium tuberculosis* and latency of disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1994, 13, 908–914.
 13. Yuan Y., Crane D.D., Barry C.E. III. Stationary phase-associated protein expression in *Mycobacterium tuberculosis*: function of the mycobacterial alpha-crystallin homolog. *J Bacteriol*, 1996, 178, 4484–4492.
 14. O'Toole R., Smeulders M.J., Blokpoel M.C. et al. A two-component regulator of universal stress protein expression and adaptation to oxygen starvation in *Mycobacterium smegmatis*. *J Bacteriol*, 2003, 185, 1543–1554.
 15. Yuan Y., Crane D.D., Simpson R.M. et al. The 16-kDa alpha-crystallin (Acr) protein of *Mycobacterium tuberculosis* is required for growth in macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95, 9578–9583.
 16. Raja A., Uma Devi K.R., Ramalingam B. et al. Immunoglobulin G, A, and M

- responses in serum and circulating immune complexes elicited by the 16-kilodalton antigen of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, 9, 308–812.
17. Demissie A., Leyten E.M., Abebe M. et al. Recognition of stage-specific mycobacterial antigens differentiates between acute and latent infections with *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Vaccine Immunol*, 2006, 13, 179–186.
18. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells. *AIDS* 2002;16:2285–93.
19. Kanaujia G.V., Garcia M.A., Bouley D.M. et al. Detection of early secretory antigenic target-6 antibody for diagnosis of tuberculosis in non-human primates. *Comp Med*, 2003, 53, 602–606.
20. Wiker H.G., Harboe M. The antigen 85 complex: a major secretion product of *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol Rev*, 1992, 56, 648–661.
21. Nagai S., Wiker H.G., Harboe M., Kinomoto M. Isolation and partial characterization of major protein antigens in the culture fluid of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*, 1991, 59, 372–382.
22. Belisle J.T., Vissa V.D., Sievert T. et al. Role of the major antigen of *Mycobacterium tuberculosis* in cell wall biogenesis. *Science*, 1997, 276, 1420–1422.
23. Ramalingam B., Baulard A.R., Locht C. et al. Cloning, expression, and purification of the 27 kDa (MPT51, Rv3803c) protein of *Mycobacterium tuberculosis*. *Protein Expr Purif*, 2004, 36, 53–60.
24. Sumi M.G., Mathai A., Sarada C., Radhakrishnan V.V. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by a dot immunobinding assay to detect mycobacterial antigen in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol*, 1999, 37, 3925–3927.
25. Harboe M., Wiker H.G. Secreted proteins of *Mycobacterium leprae*. *Scand J Immunol*, 1998, 48, 577–584.
26. Samanich K.M., Belisle J.T., Sonnenberg M.G. et al. Delineation of human antibody responses to culture filtrate antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis*, 1998, 178, 1534–1538.
27. Harboe M., Closs O., Bjorvatn B., Bjune G. Antibodies against BCG antigen 60 in mycobacterial infection. *Br Med J*, 1977, 2, 430–433.
28. Del Pezzo M., Alifano M., Faraone S. et al. Detection of IgA against the mycobacterial antigen A60 in serum and saliva in patients with active pulmonary

tuberculosis: preliminary results. *New Microbiol*, 1996, 19, 363–367.

29. Maheshwari A., Gupta H.L., Gupta S. et al. Diagnostic utility of estimation of mycobacterial antigen A60 specific immunoglobulins in serum and CSF in adult neurotuberculosis. *J Commun Dis*, 2000, 32, 54–60.

30. Ghoshal U., Kishore J., Kumar B., Ayyagari A. Serodiagnosis of smear and culture-negative neurotuberculosis with enzyme linked immunosorbent assay for anti A-60 immunoglobulins. *Indian J Pathol Microbiol*, 2003, 46, 530–534.

31. Ghelani D.R., Parikh F.S., Hakim A.S., Pai-Dhungat J.V. Diagnostic significance of immunoglobulins and adenosine deaminase in pleural effusion. *J Assoc Physicians India*, 1999, 47, 787–790.

32. Grubek-Jaworska H., Zwolska Z., Droszcz P. et al. Serum and bronchoalveolar IgG against A60 and 38 kDa antigens in the diagnosis of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 1997, 1, 556–562.

33. Li L.F., Lin M.C., Chen N.H. et al. Serodiagnosis of tuberculosis by enzyme-linked immunosorbent assay for anti-A60 and anti-A38. *Changgeng Yi Xue Za Zhi*, 1998, 21, 258–264.

34. Weldingh K., Rosenkrands I., Okkels L.M. et al. Assessing the serodiagnostic potential of 35 *Mycobacterium tuberculosis* proteins and identification of four novel serological antigens. *J Clin Microbiol*, 2005, 43, 57–65.

35. Menozzi F.D., Rouse J.H., Alavi M. et al. Identification of a heparinbinding hemagglutinin present in mycobacteria. *J Exp Med*, 1996, 184, 993–1001.

36. Pethe K., Alonso S., Biet F. et al. The heparin-binding haemagglutinin of *M. tuberculosis* is required for extrapulmonary dissemination. *Nature*, 2001, 412, 190–194.

37. Pethe K., Puech V., Daffè M. et al. *Mycobacterium smegmatis* lamininbinding glycoprotein shares epitopes with *Mycobacterium tuberculosis* heparin-binding haemagglutinin. *Mol Microbiol*, 2001, 39, 89–99.

38. Masungi C., Temmerman S., Van Vooren J.P. et al. Differential T and B cell responses against *Mycobacterium tuberculosis* heparin-binding hemagglutinin adhesin in infected healthy individuals and patients with tuberculosis. *J Infect Dis*, 2002, 185, 513–520.

39. Abou-Zeid C., Garbe T., Lathigra R. et al. Genetic and immunological analysis of *Mycobacterium tuberculosis* fibronectin-binding proteins. *Infect Immun*, 1991, 59, 2712–2718.

40. Singh K.K., Dong Y., Patibandla S.A. et al. Immunogenicity of the *Mycobacterium tuberculosis* PPE55 (Rv3347c) protein during incipient and clinical tuberculosis. *Infect Immun*, 2005, 73, 5004–5014.
41. Espitia C., Lacleste J.P., Mondragon-Palomino M. et al. The PE-PGRS glycine-rich proteins of *Mycobacterium tuberculosis*: a new family of fibronectin-binding proteins? *Microbiology*, 1999, 145, 3487–3495.
42. Mukherjee P., Dutta M., Datta P. et al. The RD1-encoded antigen Rv3872 of *Mycobacterium tuberculosis* as a potential candidate for serodiagnosis of tuberculosis. *Clin Microbiol Infect*, 2007, 13, 146–152.
43. Julian E., Matas L., Perez A. et al. Serodiagnosis of tuberculosis: comparison of immunoglobulin A (IgA) response to sulfolipid I with IgG and IgM responses to 2,3-diacyltrehalose, 2,3,6-triacyltrehalose, and cord factor antigens. *J Clin Microbiol*, 2002, 40, 3782–3788.