

ОБЗОРЫ

Обзорная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>



Накопленный опыт и перспективы исследования вируса гепатита В *in vivo*

Нагорных А.М.[✉], Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Акимкин В.Г.

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Аннотация

На сегодняшний день в мире более 300 млн человек инфицированы вирусом гепатита В (HBV), а одной из целей ВОЗ является ликвидация вирусного гепатита к 2030 г. Изучение патогенных и иммунологических свойств HBV, а также терапевтических субстанций и схем его лечения существенно осложнено отсутствием достаточного количества восприимчивых биологических тест-систем (животных моделей) и зоонозных резервуаров вируса. В связи с этим изучение свойств HBV и родственных ему гепаднавирусов даёт бесценный материал для понимания биологии возбудителя и разработки методов профилактики и борьбы с этим хроническим инфекционным заболеванием, приводящим к тяжёлым гепатопатиям (цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома).

Кроме того, продолжительная виремия HBV приводит к истощению иммунной системы, снижая резистентность против возбудителей других инфекций, особенно имеющих хроническое течение и социально обусловленное распространение.

Цель работы — оценка существующих животных моделей инфекции HBV в контексте патогенеза, иммунологических и патоморфологических характеристик. Впервые с позиции развития патоморфологических особенностей рассматривается гипотеза возможного использования некоторых моделей для изучения сочетанных с HBV социально значимых инфекций.

Для подготовки статьи использовалась информация об особенностях моделирования инфекции HBV *in vivo*, опубликованная за последние 25 лет в открытых источниках (Web of Science, PubMed, Scopus, ScienceDirect, Springer). Основными критериями для подбора литературы были тип инфицирующего агента, наблюдаемые иммунологические особенности течения инфекционного процесса и наличие описания патоморфологической картины у модельных организмов.

Ключевые слова: вирус гепатита В, животные модели, патоморфологические характеристики, обзор

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках гранта в форме субсидии на создание и развитие «Центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий», соглашение № 075-15-2019-1666.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Нагорных А.М., Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Акимкин В.Г. Накопленный опыт и перспективы исследования вируса гепатита В *in vivo*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(5):online-first.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwgum1>

Review
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>

Accumulated experience and future prospects of *in vivo* hepatitis B virus research

Aleksey M. Nagornykh[✉], Marina A. Tyumentseva, Aleksandr I. Tyumentsev, Vasily G. Akimkin

Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

Abstract

Nowadays, an estimated more than 300 million people live with hepatitis B virus (HBV) infection globally. One of the main goals of the World Health Organization (WHO) is to eliminate viral hepatitis by the year 2030. The study of the pathogenic and immunologic properties of HBV, as well as therapeutic substances and treatment regimens, is significantly complicated by the insufficient number of susceptible biological test subjects (animal models) and the lack of zoonotic reservoirs of the virus. In this regard, researching the properties of HBV and related hepadnaviruses provides invaluable material for understanding the biology of the pathogen and the developing methods of prevention and control of this chronic infectious disease, leading to severe hepatopathies (cirrhosis and hepatocellular carcinoma).

Furthermore, prolonged HBV viremia leads to depletion of the immune system, reducing resistance against pathogens of other infections, especially those with a chronic course and socially determined spread.

The aim of this research is to evaluate existing animal models of HBV infection in the context of pathogenesis, immunologic and pathomorphological features. For the first time, the hypothesis of the possible use of certain models for the research of HBV-associated socially significant infections is considered from the angle of the development of pathomorphological features.

To complete this review, we analyzed the information about the features of HBV infection models *in vivo*, published over the last 25 years in open sources (Web of Science, PubMed, Scopus, ScienceDirect, Springer). The main criteria for literature selection were the type of infecting agent, the observed immunologic features of the course of the infectious process and the availability of a description of the pathomorphological picture in model organisms.

Keywords: *Hepatitis B virus, animal models, pathomorphological features, review*

Funding source. The research was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under a grant in the form of a subsidy for the establishment and development of the "World Genomic Research Center to ensure biological safety and technological independence within the framework of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies", Agreement No. 075-15-2019-1666.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Nagornykh A.M., Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Akimkin V.G. Accumulated experience and future prospects of *in vivo* hepatitis B virus research. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(5):online-first.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwgum1>

Введение

Вирус гепатита В (HBV) представляет собой небольшой покрытый оболочкой гепатотропный ДНК-вирус. HBV имеет релаксированный частично двухцепочечный кольцевой ДНК-геном длиной около 3200 оснований с 4 основными перекрывающимися открытыми рамками трансляции: pre-S/S, pre-C/C, X и P [1, 2]. Открытая рамка трансляции pre-S/S кодирует 3 структурных белка оболочки: большой (L), средний (M) и малый (S). Белок S, известный как HBsAg, состоит из 226 аминокислот. Открытая рамка трансляции pre-C/C кодирует 2 белка: Core, или коровый белок, образует белковую оболочку нуклеокапсида, также носит название «коровый антиген гепатита В» (HBcAg); pre-Core, или прекоровый белок, образуется при инициации

трансляции с альтернативных сайтов внутри открытой рамки трансляции pre-C/C HBV. Открытая рамка трансляции X кодирует небольшой регуляторный белок X, который необходим для репликации вируса. Наконец, открытая рамка трансляции P кодирует вирусную ДНК-полимеразу [3], которая также является специализированной обратной транскриптазой, необходимой для репликации геномной ДНК HBV через промежуточную РНК [4].

HBsAg является поверхностным антигеном и основным маркером HBV. При остром гепатите HBsAg может быть выявлен в крови обследуемых уже в инкубационный период в первые 4–6 нед от начала клинического периода. Присутствие HBsAg более 6 мес рассматривается как фактор перехода болезни в хроническую стадию. Следует отметить,

что только часть HBsAg, образующегося при размножении вируса, используется для построения новых вирусных частиц, основное же его количество поступает в кровь инфицированных лиц [5].

HBcAg — коровый антиген, выявляемый только в ядрах гепатоцитов, но отсутствующий в крови. Большое диагностическое значение имеет определение в крови антител класса М к этому антигену. Эти антитела при остром гепатите выявляются раньше, чем антитела к другим вирусным антигенам. Анти-HBc-IgM обнаруживают у 100% больных острым гепатитом В, а суммарные анти-HBc антитела могут быть единственным маркером HBV в фазу так называемого «окна», когда в крови не удаётся выявить ни HBsAg, ни антитела к нему. Именно поэтому их определяют на станциях переливания крови при тестировании донорской крови и плазмы [6].

HBcAg и HBsAg являются основными структурными антигенами HBV. Оба антигена представляют собой мощные иммуногены для экспериментальных животных, а также для людей, инфицированных HBV [7].

Белок Х HBV (HBx) представляет собой плеiotропный регуляторный белок [8]. Его роль в репликации вируса была продемонстрирована в ряде исследований *in vitro* и *in vivo*. HBx был впервые идентифицирован как трансактиватор экспрессии генов. HBx не связывает элементы ДНК напрямую, но соединяется с белками, которые связывают ДНК. HBx умеренно стимулирует транскрипцию, управляемую широким спектром промоторов, включая собственный энхансер в контексте всего вирусного генома [9]. Однако роль HBx и индуцированной им транскрипции генов, а также её влияние на цитоплазматические сигнальные пути при естественном инфицировании HBV, остаётся открытой [10].

После проникновения вируса в клетку капсид HBV транспортируется в ядро, где он высвобождает вирусную ДНК. В ядре неполный геном вирусной ДНК «восстанавливается» клеточными ферментами в кольцевую ковалентно-замкнутую ДНК (ккзДНК), служащую затем матрицей для транскрипции генов HBV [11]. Заболевание сопровождается образованием инфекционных вирионов, а также высоких концентраций вирусных белков.

HBV обладает строгим тропизмом к хозяину и органу. Он присоединяется к гепарансульфат протеогликанам и поглощается при связывании с натрий-таурохолат котранспортным полипептидом (NTCP). NTCP является специфичным для гепатоцитов переносчиком желчных кислот и идентифицирован как истинный рецептор HBV.

Экспрессия человеческого NTCP (hNTCP) *ex vivo* в гепатоцитах мыши, крысы и собаки обеспечивает проникновение HBV в клетки, но затем вирус блокируется на одном или нескольких этапах жизненного цикла [12]. В свою очередь, экспрес-

сия hNTCP в гепатоцитах свиней, макак-крабоедов (*Macaca fascicularis*) и макак-резусов (*Macaca mulatta*) позволяет HBV пройти полный цикл репликации. Скорее всего, дополнительные факторы организма-хозяина необходимы для импорта неполных геномов HBV в ядро или их «восстановления» до персистирующей формы ккзДНК [13].

HBV является одним из представителей семейства *Hepadnaviridae*, включающего другие гепатотропные оболочечные ДНК-вирусы, такие как вирус гепатита В уток (Duck hepatitis B virus, DHBV), вирус гепатита сурка (Woodchuck hepatitis virus, WHV) и вирус гепатита В шерстистых обезьян (Woolly monkey hepatitis B virus, WMHBV). DHBV, WHV и WMHBV активно используются в качестве суррогатных моделей инфекции HBV. Гепаднавирусы млекопитающих, в том числе HBV, являются представителями рода *Orthohepadnavirus* и приводят к развитию патологий печени, в то время как DHBV — к роду *Avihepadnavirus*, инфицирование которым не приводит к развитию гепатопатий.

Суррогатные животные модели HBV

Утки

В 1980 г. DHBV был обнаружен в сыворотке домашних уток и стал инструментальной моделью для понимания жизненного цикла гепаднавирусов [14]. На культурах клеток гепатоцитов уток эта модель сыграла ключевую роль в выяснении механизмов репликации вируса, включая сборку вирусного капсида, инициацию обратной транскрипции и, наконец, образование двухцепочечной релаксированной кольцевой ДНК [15–19]. С помощью этой модели были исследованы этапы формирования ккзДНК [20–22]. Модели уток с персистирующей инфекцией DHBV также широко использовались для оценки противовирусных препаратов, ингибиторов сборки нуклеокапсида и комбинированных терапевтических подходов (рис. 1) [23–25].

Тем не менее утиные модели на основе DHBV по-прежнему сильно отличаются от HBV у людей в следующих аспектах: DHBV только на 40% гомологичен человеческому HBV [26], DHBV использует карбоксипептидазу D в качестве входного рецептора [27], кроме того, токсичность лекарственных препаратов может проявляться по-разному у людей и уток [28, 29]. Таким образом, скрининг кандидатных лекарственных препаратов, а также исследования механизмов с помощью этой системы могут потребовать дальнейшей проверки из-за существующих различий между вирусами и хозяевами.

Сурки

Открытие WHV, который инфицировал лесных сурков (*Marmota monax*) в зоопарке Филадельфии [30], предоставило новые возможности для из-



Рис. 1. Патогенез, иммунологические и патологические характеристики животных моделей инфекции HBV, основанных на суррогатных вирусах.

Fig. 1. Pathogenesis, immunological and pathological characteristics of animal models of HBV infection based on surrogate viruses.

учения реакции хозяина на гепаднавирусы *in vivo*. WHV схож с HBV не только по таким вирусологическим характеристикам, как размер, организация и нуклеотидная последовательность генома (сходство достигает 60–70%), но и по врожденным и адаптивным иммунным реакциям хозяина, которые возникают при вирусной инфекции [31].

В настоящее время в качестве животных моделей для исследований, связанных с HBV, используются два вида сурков: *Marmota monax* [32, 33] и *Marmota himalayana* [34]. Течение инфекции, патогенез и прогрессирование заболевания у сурков, инфицированных WHV, сходно с инфекцией HBV у людей. Следовательно, модель сурка широко используется для доклинических исследований противовирусных препаратов, а также исследований гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), вызванной HBV. В качестве доклинических моделей инфицированные сурки были протестированы на восприимчивость к таким противовирусным препаратам, как аналоги нуклеоз(т)идов, включая ламивудин [35], энтекавир [36] и тенофовир [37]. Заражение новорожденных сурков обычно приводит к хронической инфекции, тогда как у взрослых сурков обычно развивается острый гепатит, что указывает на аналогичный иммунный ответ против вирусной инфекции HBV у человека. Благодаря этому стало возможным применение сурков в качестве животной модели HBV для разработки профилактических вакцин и скрининга иммунотерапевтических

подходов к борьбе с HBV [15, 16, 32, 33]. В частности, на модели *Marmota himalayana* показано, что применение аналогов нуклеозидов отдельно или в сочетании с ДНК-вакциной способно индуцировать частичный или полный иммунный ответ, предотвращая виремию после инфицирования WHV [38].

Тем не менее следует отметить, что при проведении исследований на модели сурка существуют некоторые ограничения. Во-первых, сурок — крупное животное, и в ходе проведения экспериментальных процедур с ним бывает трудно работать. Во-вторых, существует мало реагентов для исследования иммунного ответа сурков на вирусную инфекцию. Кроме того, различен HBV- и WHV-опосредованный канцерогенез, поскольку ДНК WHV часто интегрируется в протоонкоген *Мус*, в результате чего почти у всех неонатально инфицированных сурков развивается ГЦК, тогда как HBV предпочитает интегрироваться в гены *TERT*, *MLL4* и *CTNNB1* [39]. Таким образом, различия между вирусами HBV и WHV, а также их влиянием на хозяев необходимо принимать во внимание для оценки эффективности потенциальных терапевтических препаратов и вакцин, направленных против HBV.

Летучие мыши

Метагеномный анализ образцов тканей популяций летучих мышей выявил множество гепаднавирус-подобных последовательностей, демонстрирующих более 70% гомологии с последовательно-

стями геномов WHV и HBV [40]. Полногеномное секвенирование образцов тканей летучих мышей, обитающих в Панаме и Габоне, также установило наличие в этих популяциях гепаднавирусов, однако зоонозный потенциал был подтверждён лишь у летучих мышей Нового Света. Этот вирус обладал способностью инфицировать гепатоциты человека посредством hNTCP и вступал в перекрёстную реакцию с моноклональными антителами против S-домена HBsAg. Гистопатологическое исследование продемонстрировало незначительные или умеренные лимфоцитарные, а также скудные нейтрофильно-эозинофильные инфильтраты в портальных триадах инфицированных животных [41]. Наличие HBx позволяет предположить потенциал развития ГЦК у инфицированных летучих мышей. Однако обнаружение антитело-позитивных и ДНК-отрицательных летучих мышей в сочетании с высокой серопревалентностью в рамках этого же исследования указывает на то, что летучие мыши, вероятно, способны избавляться от инфекции.

Использование летучих мышей в качестве модельного организма для изучения HBV является дорогостоящим и трудоёмким в связи с необходимостью организации ухода и содержания животных в условиях изолированного вивария. Кроме того, сами гепаднавирусы летучих мышей изучены недостаточно. Однако вопрос моделирования инфекции HBV на рукокрылых открыт с учётом миграционного характера существования этих животных.

Нечеловекообразные приматы

Другой HBV-подобный вирус — WMHBV — инфицирует своего естественного хозяина — шерстистую обезьяну (*Lagothrix lagotricha*) [42]. WMHBV успешно использовался в различных исследованиях на паукообразных (*Ateles geoffroyi*) и беличьих (*Saimiri sciureus*) обезьянах. Инфекционный клон WMHBV был разработан для исследования на моделях паукообразных обезьян, что привело к умеренной виремии (10^4 – 10^5 геномного эквивалента на 1 мл) через 8 нед после инокуляции с последующим иммунопосредованным клиренсом [28]. Шерстистые и паукообразные обезьяны находятся под угрозой исчезновения и по этическим причинам не доступны для исследований, связанных с HBV [43, 44]. Тем не менее модели HBV на основе нечеловекообразных приматов могут оказаться многообещающими. Так, у беличьих обезьян, инфицированных WMHBV, наблюдались острые инфекции, а в некоторых случаях и хронические инфекции при доставке геномов WMHBV с помощью аденоассоциированных вирусов [45]. Показано, что у беличьих обезьян, инфицированных WMHBV, виремия длится 6–8 мес, что более чем в 2 раза превышает продолжительность виремии у других нечеловекообразных приматов. Этот факт

позволяет рассматривать их в качестве суррогатной модели для разработки терапевтических подходов для лечения HBV [45].

В 2013 г. в популяции яванских макаков на острове Маврикий (mcHBV) был обнаружен один природный трансмиссивный штамм HBV, на 99% идентичный штамму генотипа D (ayw) вируса гепатита В, что породило некоторые надежды на создание модели HBV на основе маленькой обезьяны Старого Света [46]. Однако до сих пор получить продуктивной инфекции яванских макаков mcHBV не удалось, несмотря даже на то, что их заражали высокими дозами [47].

После того как hNTCP был идентифицирован как функциональный рецептор HBV, исследователи обнаружили, что он является ключевым фактором хозяина, ограничивающим инфекцию HBV у яванских макаков и макаков-резусов [13]. hNTCP отличается от NTCP приматов только пятью аминокислотными остатками в области связывания HBV. Однако отличие по одному из таких отличающихся аминокислотных остатков (G158R) приводит к неспособности связывания HBV с NTCP приматов. Внесение соответствующей мутации в ген *NTCP* приматов привело к возникновению восприимчивости к HBV [48]. Чтобы создать новую модель HBV, обеспечивающую восприимчивость к HBV, можно было бы ввести в NTCP макаков мутацию *R158G* с помощью системы направленного редактирования генома CRISPR/Cas.

Кроме того, на основе макаков-резусов, трансдуцированных вирусным вектором для экспрессии hNTCP *in vivo*, была создана модель HBV [47]. Введение вирусного вектора с последующим заражением HBV приводило к устойчивой виремии HBV в течение как минимум 6 нед. В организме модельных животных формируется гуморальный и противовирусный клеточный иммунитет, а в гепатоцитах макаков-резусов в ходе инфекции — ккзДНК. Однако уровень экспрессии hNTCP у макаков-резусов остаётся низким, в связи с чем эта модель инфекции HBV не признана эффективной (лишь 0,5–1,0% гепатоцитов являются HBsAg-положительными, в то время как в крови HBsAg не обнаружен) [47].

Перечисленные данные весьма обнадеживают и вдохновляют на разработку других моделей HBV на основе нечеловекообразных приматов, которые смогут продемонстрировать более высокую эффективность заражения вирусом гепатита В.

Иммунотолерантные животные модели HBV

Трансгенные мыши

Начиная с 1985 г. были созданы модели трансгенных мышей, экспрессирующих белки HBV (такие, как HBsAg [49], HBeAg [50] или HBx [51]) для изучения их роли в патогенезе либо полноразмерные геномы HBV, которые могут продуцировать

инфекционные вирионы HBV в гепатоцитах мышей [52–55]. Эти модели внесли особенно важный вклад в идентификацию онкогенных функций HBsAg и белка HBx, которые вызывают воспаление, изменяют экспрессию генов хозяина и, в конечном итоге, приводят к развитию ГЦК [51, 56].

Трансгенные мыши, экспрессирующие HBeAg, иммунологически толерантны не только к HBeAg, но и к HBsAg, однако способны к трансплацентарной передаче HBeAg. Показано, что нехищное потомство таких животных после рождения демонстрирует сниженный Т-клеточный ответ на HBsAg. Всё перечисленное указывает на то, что на ранней стадии инфекции HBeAg играет решающую роль в ограничении Т-клеточного ответа на HBsAg и способствует переходу процесса в хроническое течение. В то время как экспрессия HBsAg не вызывает очевидных патоморфологических изменений у этих мышей, усиленная экспрессия HBeAg ингибирует его высвобождение, что приводит к образованию ацидофильных включений в цитоплазме и способствует развитию фокальной нодулярной гиперплазии печени. Клетки с ацидофильными включениями, в свою очередь, напоминают матовостекловидные гепатоциты у носителей HBV [57].

Трансгенные мыши, экспрессирующие HBxAg в тканях печени под контролем своего нативного промотора, были использованы для установления онкогенного потенциала HBxAg. Из-за того, что HBxAg экспрессируется не во всех гепатоцитах, не у всех животных развивается ГЦК. У некоторых мышей появляется лишь умеренный ядерный плеоморфизм и повышается митотическая гепатоцитарная активность невоспалительного характера, а также возникает мультифокальный гепатолипидоз (рис. 2). Примечательно, что прогрессирование заболевания и гибель наблюдаются у самцов гораздо раньше, чем у самок [58].

Трансгенные мыши с интегрированными полноразмерными геномами HBV, способные продуцировать вирионы HBV в периферическую кровь, также использовались для проверки эффективности противовирусных препаратов, таких как ламивудин и энтекавир, а также для оценки противовирусных эффектов терапевтических препаратов на основе малых интерферирующих РНК [59, 60].

Трансгенные мыши являются иммунотолерантными в отношении HBV, поскольку геном HBV интегрирован в геном мыши [61]. Тем не менее трансгенные мыши использовались для изучения

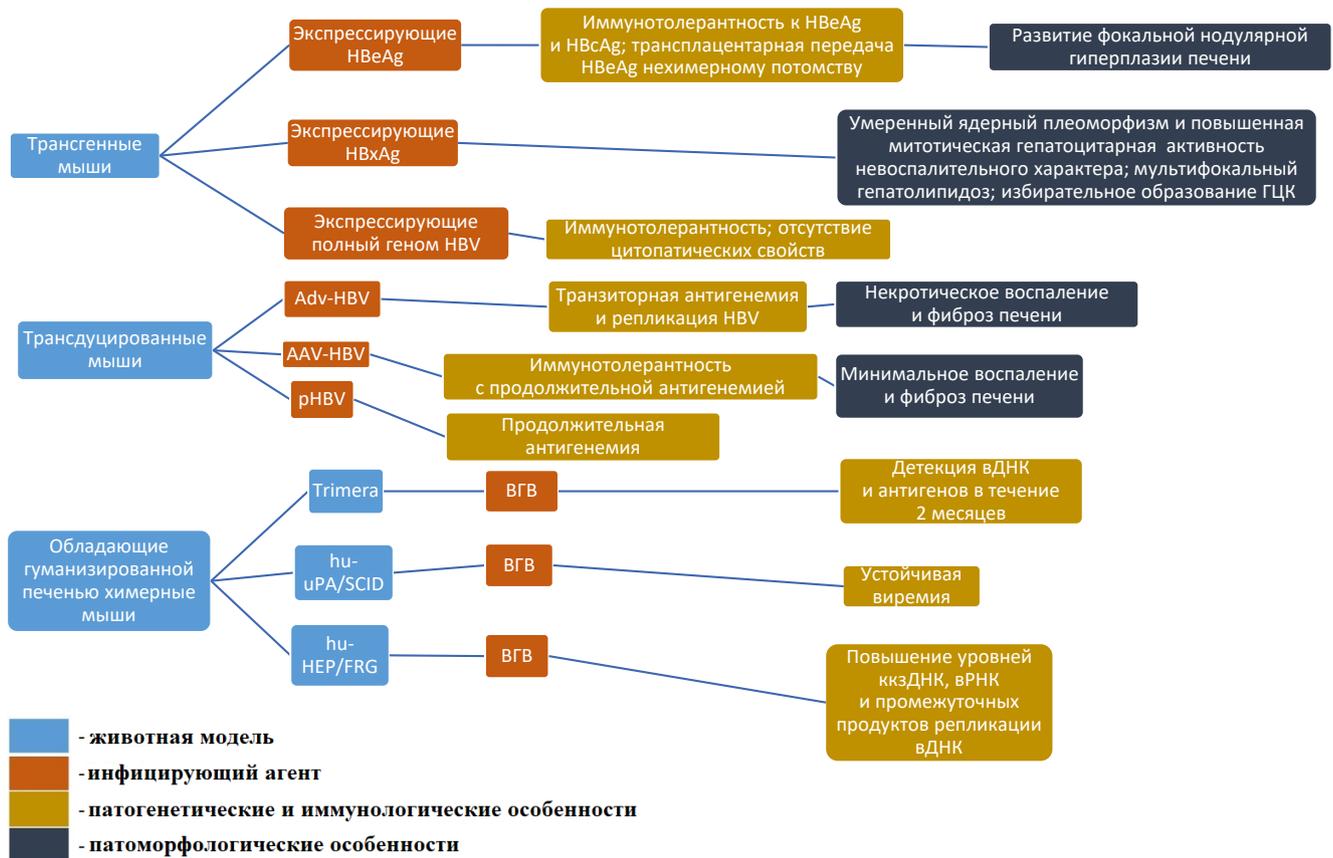


Рис. 2. Патогенез, иммунологические и патологические характеристики иммунотолерантных животных моделей инфекции HBV.

Fig. 2. Pathogenesis, immunological and pathological characteristics of immunotolerant animal models of HBV infection.

противовирусного эффекта индуктора интерферонов [62] и агониста толл-подобного рецептора 7/8 [54]. Кроме того, трансплантация иммунных клеток от наивных мышей трансгенным может спровоцировать развитие иммунного ответа на HBV [63–65].

Трансдуцированные мыши

Основным методом трансдукции гепатоцитов мыши *in vivo* является гидродинамическая инъекция, заключающийся в быстром (6–8 с) введении большого количества генетических конструкций, содержащих геном HBV, в хвостовую вену под высоким давлением [66]. При этом происходит повреждение гепатоцитов, что влечёт за собой постинъекционное повышение уровня аланинтрансаминазы до огромных значений, но после трансдукции репликация HBV носит временный характер [67]. Трансдукция гепатоцитов *in vivo* осуществляется с помощью плазмидных ДНК, аденовирусных (Adv) или аденоассоциированных вирусных векторов (AAV). Показано, что трансдукция с помощью высоких доз Adv вызывает транзиторную антигемию [68] и репликацию HBV на протяжении 3 мес. После этого возникает сильный иммунный ответ против самого аденовируса [67]. Трансдукция с помощью AAV приводит к иммуноtolерантному фенотипу с длительной антигемией, минимальным воспалением и фиброзом печени [69].

Использование плазмидных ДНК снижает риски возникновения сильных иммунных ответов против вирусных носителей [70]. У иммунокомпетентных животных образование антигенов, вирусных транскриптов и синтез ДНК длится в течение 14 дней. Это связано с развитием Т-клеточного иммунного ответа, направленного на уничтожение инфицированных гепатоцитов. Важно отметить, что у иммунодефицитных мышей NOD/SCID тот же процесс длится в течение 81 дня после трансдукции [70].

Оптимизация носителя, содержащего геном HBV, позволила увеличить продолжительность антигемии у иммунокомпетентных мышей до 6 мес. При этом HBsAg-положительные мыши-носители продуцировали антитела против HBcAg, но не против HBsAg, что напоминает картину иммуноtolерантной фазы инфекции у людей-носителей. Перенос иммунных клеток, специфичных к HBcAg, способствовал элиминации HBsAg из сыворотки крови мышей-носителей, что демонстрирует решающее значение иммунного ответа против HBcAg в устранении персистенции HBV [71].

Решающее значение в персистенции HBV *in vivo* играет ккзДНК, которая отвечает за рецидив вирусной активности у хронически инфицированных пациентов. Необходимо отметить, что ккзДНК не способна внедряться в ядра гепатоцитов немо-дифицированных мышей. С помощью Adv, не способного к репликации, рекомбинантная ккзДНК

(рккзДНК) HBV была успешно доставлена в печень трансгенных мышей Alb-Cre и оставалась стабильной более 62 нед, что привело к персистенции HBV. Устойчивая некровоспалительная реакция и фиброз печени, обнаруженные на поздней стадии персистенции вируса, были аналогичны повреждениям при прогрессирующем течении хронического гепатита В (ХГВ) у человека [72]. На этой же линии мышей посредством аденоассоциированного вируса 8 была создана похожая гепатотропная модель рккзДНК. Модель характеризовалась продолжающейся более 72 недель антигемией и персистенцией ккзДНК более 51 недели. В отличие от предыдущей модели, в печени отмечалось незначительное паренхиматозное воспаление и очаговый фиброз [73].

Таким образом, подход к трансдукции мышей HBV, опосредованной вирусными векторами и плазмидными ДНК, пригоден для дальнейшего использования в исследованиях иммуноtolерантности к HBV. Более того, доставка AAV-HBV мышам вызвала гистопатологические проявления, соответствующие фиброзу печени, характерному для инфекции HBV [74]. Однако этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Химерные мыши с гуманизированной печенью

Трансгенные и трансдуцированные мыши не поддерживают полноценного инфицирования из-за отсутствия рецептора hNTCP. Модель «Trimer» является результатом самых ранних попыток в направлении совершенствования существующих мышинных моделей HBV. Для создания такой модели иммунодефицитным мышам под капсулу почки трансплантировались фрагменты инфицированной печени человека. После приживления трансплантата вирусная ДНК и антигены обнаруживались в течение 2 мес [75]. Эта модель использовалась для оценки противовирусных препаратов, несмотря на ограничение применимости для прочих задач исследования HBV из-за относительно короткого временного окна для инфекции и транзитного характера виремии. В другой простой модели мышам Nude, обладающим частичным иммунодефицитом, подкожно трансплантировали клетки линии HepAD38, способные к индуцируемой продукции HBV. Устойчивая виремия развивалась через 21 день после формирования подкожного новообразования и сохранялась на протяжении 30 дней [76].

Альтернативой модели «Trimer» считается применение мышей со специфической для печени экспрессией активатора плазминогена урокиназного типа (uPA). Таким животным свойственны повышенная концентрация uPA, гипофибриногенемия и неонатальные кровоизлияния. Экспрессия гена *uPA* индуцирует некроз гепатоцитов у молодых мышей

и через 9 нед обеспечивает выраженную репопуляцию около 87% паренхимы печени [77]. Несмотря на устойчивую вирусемию, матовостекловидные гепатоциты у таких животных не обнаруживаются [78]. Модель hu-uPA/SCID широко используется для оценки противовирусных препаратов и разработки схем иммунной терапии, а также для изучения механизма врождённого иммунного ответа против HBV. Основным недостатком этой модели является неконтролируемая экспрессия гена *uPA*, требующая проведения ксенотрансплантации гепатоцитов в неонатальный период, а также повышенный риск возникновения обширных кровоизлияний у модельных животных [79].

В 2018 г. G. Dalton и соавт. представили мышей с нокаутом гена *Fah*. Эти животные в значительной степени решили проблему модели hu-uPA/SCID. Потеря гена *Fah* вызывает накопление токсичных метаболитических промежуточных продуктов катаболизма фенилаланина в тирозин, а индукция печёночной недостаточности регулируется введением 2-(2-нитро-4-флюорометилбензоил)-1,3-циклогександиона [80]. На основании этой особенности было создано несколько моделей, среди которых — мыши FRG, несущие генотип с нокаутом генов *Fah*, *Rag2* и *IL-2ry*. Животные этой линии достигли 95% репопуляции печени гепатоцитами человека [81, 82]. После инфицирования HBV у мышей hu-HEP/FRG наблюдалось повышение уровней ккЗДНК, вРНК и промежуточных продуктов репликации вирусной ДНК. Модель hu-HEP/FRG успешно используется для исследования патогенеза HBV [82] и оценки эффективности противовирусных препаратов и терапевтических схем [83].

Иммунокомпетентные животные модели HBV

Тупайя

Тупайя (*Tupaia belangeri*) — это небольшие млекопитающие, которые генетически более тесно связаны с приматами, чем с грызунами [84]. Тупайя экспериментально восприимчивы к HBV и вирусу гепатита С (HCV), что привело к тому, что они стали моделью животных, не относящихся к приматам, которая была изучена в последние десятилетия [85, 86]. Подобно другим видам, тупайи имеют большую склонность к хроническому развитию заболевания при заражении в новорождённом возрасте и демонстрируют такие же гистопатологические изменения в печени, как и у людей, инфицированных HBV [83]. Первичные гепатоциты тупайи широко доступны и используются при инфекциях HBV и WMHBV [87, 88].

Именно благодаря первичной культуре гепатоцитов тупайи стало возможным точное картирование сайта связывания HBV, а NTCP был иденти-

фицирован как его функциональный рецептор [12]. Внутривенная инокуляция HBV новорождённым животным приводит к персистенции HBcAg в печени, сопровождающейся непродолжительной HBsAg- и HBeAg-антигенемией, а внутривенная трансдукция рекомбинантной вирусной ДНК — к появлению сывороточных антител против HBsAg и HBcAg и развитию хронического гепатита, заканчивающегося фиброзом у некоторых особей [89]. У взрослых тупай внутривенное или внутривенное инфицирование приводит к быстрому нарастанию титров антител против HBcAg, HBsAg и HBeAg в течение 2–3 нед. Гистопатологические изменения печени у хронически инфицированных животных аналогичны наблюдаемым при ХГВ человека [89], включая образование ГЦК на поздней стадии жизни у 30% животных (рис. 3). При этом повышения уровней сывороточных трансаминаз у тупай не происходит [90].

На сегодняшний день существует ряд предостережений, которые ограничивают применимость тупайи в качестве животной модели HBV. Во-первых, тупайи как беспородный вид обладают генетической гетерогенностью, которая может быть полезна для изучения реальных ситуаций, но не приемлема для крупномасштабных исследований, проводимых на животных. Во-вторых, у тупай обнаруживаются лишь низкие титры вируса *in vivo*. И, наконец, существует острая нехватка инструментов и материалов для исследования HBV у этого вида.

Химерные мыши с гуманизированной иммунной системой и печенью

Значительным недостатком химерных мышей с гуманизированной печенью является их высокий иммунодефицитный фон. Для того чтобы обеспечить возможность анализа иммунного ответа человека на HBV, вирусиндуцированного иммунопатогенеза и тестирования иммуномодуляторов для лечения ХГВ, постоянно совершенствуются протоколы совместного приживления мышам гепатоцитов человека и клеток иммунной системы человека.

Восстановление иммунной системы человека достигается посредством внутривенной инъекции новорождённым мышам NSG, несущим аллель HLA-A2, гематопоетических стволовых клеток CD34⁺ человека (hCD34⁺). hCD34⁺ совместно с клетками-предшественниками печени человека заселяют печень мыши, повреждённую агонистическими антителами против CD95. Эта модель позволяет достичь 25% гуманизации клетками человека, персистенции HBV с низкой вирусной нагрузкой ($< 5 \times 10^5$ копий/мл) и развития специфического для HBV hCD8⁺-Т-клеточного ответа. Накопление M2-подобных макрофагов, способствующих у пациентов с ХГВ ускоренному фиброзу печени, приводит к развитию тяжёлого гепатита и фиброза у мышей [91].

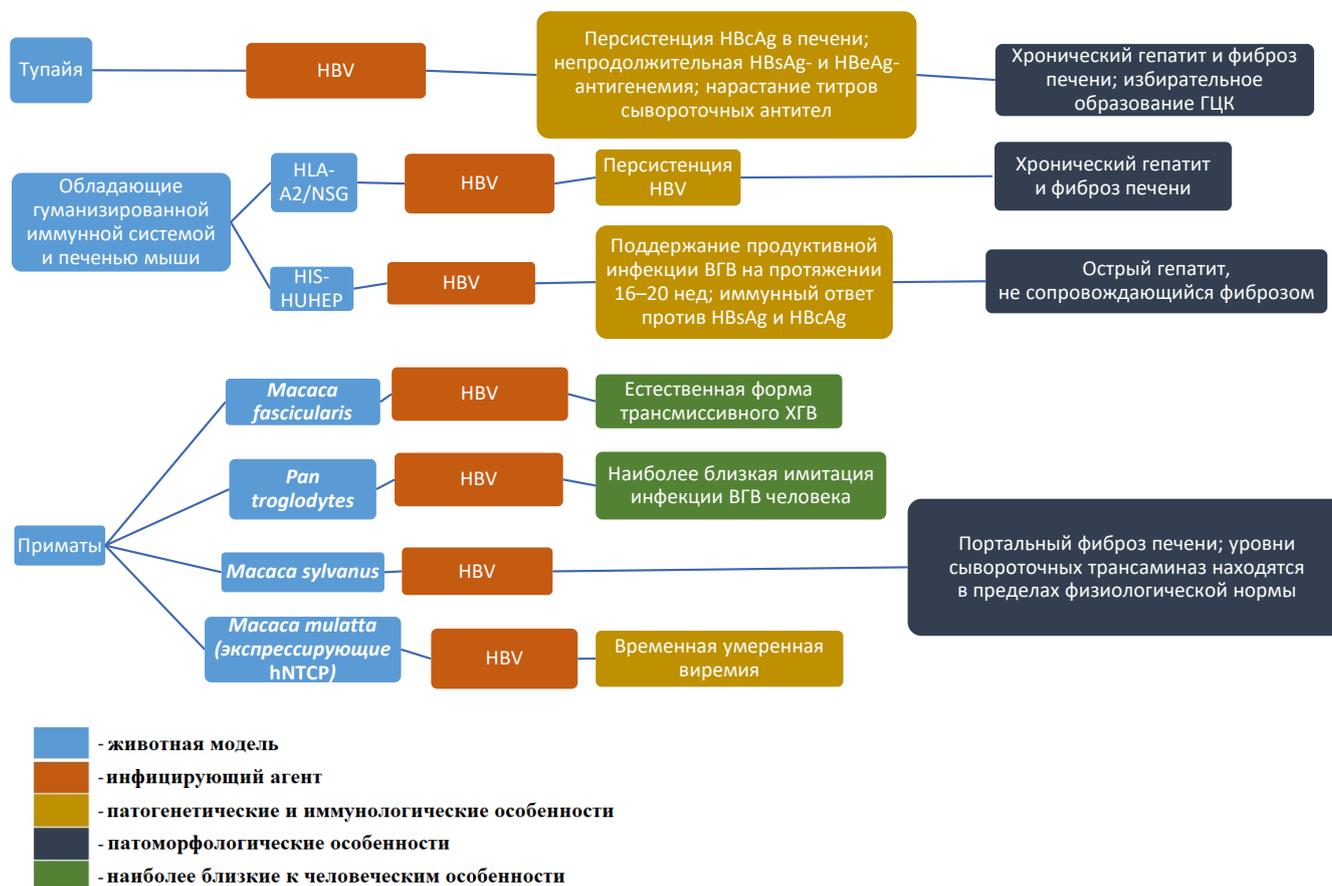


Рис. 3. Патогенез, иммунологические и патологические характеристики иммунокомпетентных животных моделей инфекции HBV.

Fig. 3. Pathogenesis, immunological and pathological characteristics of immunocompetent animal models of HBV infection.

Другая модель — HIS/hu-HEP — создаётся путём приживления клеток hCD34⁺ и гепатоцитов взрослого человека мышам BALB/c Rag2^{-/-}IL2ry^{-/-}Sipra NOD Alb-uPA^{tg/tg}. HIS/hu-HEP характеризуется более высоким уровнем продукции антигенов HBV, а также развитием и поддержанием продуктивной инфекции на протяжении 16–20 нед. Инфицирование животных этой модели приводит к инфильтрации воспалительных клеток в области, содержащие антиген-положительные гепатоциты, без последующего формирования очагов фиброза. При этом воздействие небольшими дозами антигенов HBsAg и HBcAg индуцирует более сильный иммунный ответ [92].

Линия мышей FRGS (Fah^{-/-}Rag2^{-/-}IL-2Rγc^{-/-}SCID) также применяется для создания химерных мышей с гуманизированной иммунной системой и печенью. Для этого проводят интраспленальную трансплантацию мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека. В результате через 12 нед мезенхимальные стволовые клетки костного мозга человека дифференцируются в функциональные гепатоциты непосредственно в печени мышей. Кроме того, hCD45⁺-клетки в различной степени заселяют

костный мозг, тимус, лимфатические узлы, печень и обнаруживаются в периферической крови модельных животных. После инфицирования развивается персистирующая инфекция HBV с высокой вирусной нагрузкой и антигемией, привлекающей в паренхиму печени большое количество воспалительных клеток. Патоморфологическая картина острого лобулярного гепатита с образованием лимфоидных агрегатов и поражением протоков проявляется через 12 нед после инфицирования, а характерна для ХГВ портальная и перипортальная лимфоцитарная инфильтрация обнаруживается с 24-й недели. Образование в печени диффузных рубцов и областей фокальной нодулярной гиперплазии, а также повышенные уровни сывороточных γ-глутамилтранспептидазы и гиалуроновой кислоты сохраняются на протяжении 36 нед после инфицирования. В совокупности такие изменения печени у животных подобны некоторым патоморфологическим признакам, характерным для течения ХГВ у человека. Более того, у 10% инфицированных животных развивается цирроз, что напоминает картину ХГВ у человека [92].

Химерные мыши с гуманизированной иммунной системой и печенью представляют собой

новый тип животных моделей HBV. Такие модели успешно воспроизводят естественное развитие инфекции HBV и, таким образом, открывают возможности для понимания патофизиологии вирусного иммунитета и улучшения стратегий вмешательства при заболеваниях печени, связанных с HBV.

Приматы

Шимпанзе — единственная известная иммунокомпетентная модель, которая полностью восприимчива к HBV и может довольно точно воспроизводить картину патогенеза и прогрессирования заболевания. Показано, что даже 1 геномного эквивалента ДНК HBV достаточно для успешного заражения шимпанзе [93]. После инъекции HBV, полученного от пациентов с ХГВ, у шимпанзе может развиваться острая и хроническая инфекция с профилями иммунного ответа и воспаления, очень похожими на таковые у пациентов, инфицированных HBV [94].

На ранних этапах исследований HBV модель шимпанзе сыграла важную роль в оценке безопасности и эффективности разрабатываемых вакцин против HBV. Исследования на шимпанзе использовались для проверки эффективности вакцины против гепатита В первого поколения (полученной из плазмы крови) и разработанной позже рекомбинантной вакцины, содержащей HBsAg, полученный в клетках дрожжей [94, 95]. В последние годы эффективность модифицированных рекомбинантных вакцин, вакцин против устойчивых к противовирусным препаратам мутантных форм HBV и некоторых исследований по терапевтической вакцинации также была проверена с использованием модели шимпанзе [96–98].

Шимпанзе кажутся незаменимыми в качестве модели иммунокомпетентных животных в исследованиях иммунитета в связи с тем, что могут воспроизводить такое же воспаление печени и клеточные иммунные реакции, как и у пациентов, инфицированных HBV. Исследования на шимпанзе показали, что нецитопатические противовирусные механизмы, опосредованные провоспалительными цитокинами, могут способствовать клиренсу вируса во время острого вирусного гепатита [99]. Совсем недавно исследования на моделях шимпанзе с ХГВ показали, что иммунная модуляция может повысить противовирусный иммунитет и подавить репликацию HBV (например, посредством активации TLR-7 агонистом) [100]. Хотя шимпанзе исторически были наиболее релевантным видом животных для исследований HBV, ограниченность доступности, высокие затраты и серьезные этические проблемы ограничили их использование в качестве экспериментальной модели.

Кроме шимпанзе, применялись и другие модели приматов для изучения HBV. Например, у маготов (*Macaca sylvanus*), трансдуцированных плаз-

мидной ДНК, содержащей геном HBV, развиваются вирусемия и ранний портальный фиброз печени, что также характерно для течения заболевания у человека. В то же время уровни сывороточных трансаминаз у инфицированных маготов остаются в пределах значений физиологической нормы [101]. У макак-резусов, экспрессирующих hNTCP в гепатоцитах, также может быть установлена временная умеренная вирусемия [47].

Модели, созданные на основе приматов, являются крайне важными в изучении HBV, не имеют широкого распространения не только по этическим причинам, но и ввиду их высокой стоимости, а также отсутствия необходимых инструментов (реагентов) для проведения подобных исследований.

Модели социально значимых коинфекций HBV

Инфекция HBV является социально обусловленным хроническим заболеванием и может сочетаться с другими инфекциями, вызываемыми HCV и вирусом гепатита D (HDV), вирусом иммунодефицита человека (HIV) или туберкулезом. При этом патофизиологические, иммунологические и патоморфологические особенности этих сочетанных заболеваний существенно отличаются от характеристик моноинфекции. Поэтому при разработке терапевтических подходов целесообразно разрабатывать в том числе животные модели, способные отражать особенности сочетанных инфекций.

Коинфекции HBV/HCV и HBV/HDV

Гепатит С широко распространён. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в мире около 3% населения инфицировано HCV, при этом ежегодно происходит около 1,5 млн новых случаев инфицирования. От последствий гепатита С (главным образом, от цирроза и рака печени) ежегодно умирает более 250 тыс. человек.

Гепатит D относится к воспалительным поражениям печени, вызванным HDV. Для репликации HDV необходимо присутствие HBV (без HBV даже заражение гепатитом D невозможно). Коинфекция HBV/HDV считается наиболее тяжёлой формой ХГВ ввиду более стремительного развития ГЦК, которая приводит к летальному исходу.

Благодаря способности к контролируемому апоптозу гепатоцитов трансгенные гуманизированные мыши hu-uPA/SCID/beige и AFC8-hu-HSC/Her могут быть использованы для имитации сочетанных коинфекций HBV/HCV или HBV/HDV. Титры вирусов у этих моделей достигают обнаруживаемых в сыворотке крови значений через 3 нед после инфицирования HBV/HDV. При этом вирусемия HBV несколько ниже HDV-вирусемии, т.к. коинфекция HBV/HDV связана с индукцией экспрессии интерферонов I типа человека, в отличие от моноинфек-

ции HBV [102]. Мыши линий FRG и Alb-uPA также успешно использовались для ксенотрансплантации гепатоцитов человека и последующего инфицирования HCV. Интересно, что в ходе проделанных работ был подтверждён трансмиссивный характер заболевания [103, 104].

У. Амако и соавт. продемонстрировали возможность инфицирования наивных животных сывороткой серопозитивных тупай с последующим развитием острого гепатита и виремии. Инфицирование тупай сывороткой HCV-позитивного человека приводило к повышению уровня сывороточной аланинаминотрансферазы в 2–5 раз и возникновению продолжительной транзитной виремии. При этом у инфицированных животных отмечался гепатолитидоз. В течение последующих 2 лет вокруг портальных областей и синусоидов печени формировались лимфоцитарные инфильтраты, характерные для хронической патологии. Еще 1 год спустя воспаление приводило к развитию умеренного и даже тяжёлого фиброза с элементами цирроза печени [105].

Как и для HBV, функциональным рецептором для HDV является NTCP. При этом для высвобождения из инфицированных гепатоцитов и продолжения инфекционного процесса HDV необходимы оболочечные белки HBV [106], хотя известно, что HDV может персистировать в покоящихся (неделяющихся) гепатоцитах сурка как минимум в течение 42 дней, независимо от HBV [103]. Проведённые *in vivo* исследования на сурках, инфицированных как WHV, так и HDV, помогли в разработке стратегий иммунизации. Хотя J.L. Gerin утверждал, что одним из препятствий для многостороннего использования данной модели являлось раннее развитие WHV-индуцированной ГЦК [107].

Коинфекция HBV/HIV

На конец 2022 г. в мире, по разным оценкам, насчитывалось 33,1–45,7 млн человек, живущих с HIV-инфекцией. Около 1% людей, живущих с HBV-инфекцией (2,7 млн человек), также инфицированы HIV. Известно, что у HIV-позитивных пациентов с ХГВ риск смертности при осложнении гепатопатии в 8 раз выше из-за применения высокоактивной антиретровирусной терапии. Помимо этого HIV-инфекция ускоряет прогрессирование HBV-инфекции, значительно увеличивая риск развития цирроза печени или ГЦК. При этом инфицирование HBV не приводит к ускоренному сокращению количества CD4⁺-Т-клеток [108].

Учитывая аналогичные факторы передачи, случаи коинфекции HBV/HIV нередки. Поэтому для изучения сочетанной инфекции HBV/HIV используются дважды гуманизированные мышинные модели. Такой моделью могли бы стать мыши AFC8-hu-HSC/Нер, полученные из линии иммунодефицитных мышей. Животным AFC8-hu-HSC/Нер

свойственен индуцируемый апоптоз гепатоцитов благодаря введённому в геном трансгену (AFC8 — FK506-связывающий белок и каспаза 8 под контролем альбуминового промотора). Инфицирование этих мышей HBV приводит к экспрессии фиброгенных белков человека, которые обуславливают развитие воспаления и фиброза печени, коррелирующих с активацией звёздчатых клеток в гуманизированной части печени [109]. Сходным образом возможно использовать модели гуманизированных мышей HIS/hu-НЕР [91] или ТК-NOG-hu-HSC/Нер [110]. Однако основным препятствием для создания этих моделей является необходимость использования для трансплантации тканей, полученных от одного донора.

Более проста в исполнении мышинная модель ННЛ, получаемая путём трансплантации в паренхиму печени иммунодефицитных мышей эмбриональных hCD34⁺-клеток. Таким образом удаётся получить мышей с двойной гуманизацией и минимизированным риском развития реакции «трансплантат против хозяина». После инфицирования у мышей ННЛ наблюдался узелковый фиброз печени, прогрессирующий до разлитого фиброза с многочисленными перегородками. Разлитой фиброз приводил в результате воспаления и активации звёздчатых клеток печени к развитию сильного рубцевания и нодулярного цирроза. При этом в паренхиме печени животных отмечалось трёхкратное увеличение количества hCD45⁺-лейкоцитов и усиление регуляции как человеческих, так и мышинных фиброгенных генов [111].

Коинфекция HBV/Mycobacterium tuberculosis

Туберкулёз, как и инфекции, вызываемые вирусами HCV и HDV, и HIV, является социально значимым заболеванием. В 2021 г., согласно оценкам, туберкулёзом во всем мире заболели 10,6 млн человек. Нередко встречаются коинфекции HBV и *Mycobacterium tuberculosis* (MTB).

Известно, что при терапии сочетанной инфекции HBV и MTB в первую очередь применяются противотуберкулёзные препараты, что на фоне туберкулёза печени может нести огромный риск повреждения печени [112]. Макаки-резусы и макаки-крабоеды восприимчивы к инфицированию MTB при естественном пути инфицирования, и у них образуются гранулёмы, в том числе в печени, имеющие высокоупорядоченную архитектуру с центральным некрозом, окружённым периферическим ободком [113].

Разработка аэрозольного способа инфицирования мышей позволила повысить вирулентность микобактерий относительно внутривенного способа [114]. Модель BLT, получаемая путём трансплантации под капсулу почки иммунодефицитных мышей фетальных тканей костного мозга, печени и тимуса человека, восприимчива к инфицированию

микобактериями. Через 3–4 нед после инокуляции МТВ развивалось мультифокальное воспаление паренхимы печени. При этом бактерии локализованы в областях воспаления, но спустя 4 нед после инфицирования в печени не было отмечено обструкции протоков [115]. Основная сложность модели BLT заключается именно в процедуре ксенотрансплантации, требующей выполнения манипуляций с ювелирной точностью. Кроме того, в модели BLT развивающаяся человеческая ткань печени не воссоздаёт полноценную структуру органа.

Универсальной моделью для некоторых инфекций могут стать высокоиммунодефицитные мыши ТК-NOG, пригодные для ксенотрансплантации как тканей печени, так и гематопозитических стволовых клеток. Их гуманизация может позволить имитировать не только HBV-инфекцию, сочетанную с HIV [110], но и сделать этих мышей перспективной моделью для будущих исследований коинфекции HBV/MTV.

L. Zhan и соавт. сообщали о восприимчивости тупай к экспериментальному внутривенному инфицированию высокими и низкими дозами МТВ. Учитывая, что тупай аутбредны, наблюдаемые клинические признаки заболевания различались среди животных даже внутри одной экспериментальной группы. Патоморфологическое исследование показало наличие в лёгких и селезёнке туберкулёзных гранулём с казеозным некрозом в центре и большим количеством воспалительных клеток на периферии. Очаговый некроз с воспалительными клетками был распространён в коре и капсуле надпочечников и мозжечке. Инфильтрированные воспалительными клетками очаги поражения, содержащие МТВ, были обнаружены в печени, почках и обширных некротических очагах в мышцах. Важно отметить, что к 11-й неделе животные достигали гуманных конечных точек [116]. Учитывая вышеизложенное, тупай также могут считаться перспективной моделью для будущих исследований коинфекции HBV/MTV.

Заключение

DHBV только на 40% гомологичен HBV [26] и в качестве входного рецептора использует карбоксипептидазу D [27]. Поэтому утки обладают низкой релевантностью в качестве моделей для оценки эффективности противовирусной терапии [117]. Как и утки, сурки, летучие мыши и приматы не инбредны, а иммунологические реагенты для всестороннего исследования гепаднавирусных инфекций недоступны. Кроме того, многие естественные модели инфекции просто находятся под угрозой исчезновения.

Иммунотолерантные мыши могут только поддерживать репликацию HBV в контексте анатомо-физиологических особенностей мыши. При этом жизненный цикл вируса является неполным

из-за отсутствия этапов проникновения, образования ккзДНК и распространения. Релевантность результатов, полученных на химерных мышцах, обладающих гуманизированной печенью, невозможно транслировать на человека вследствие их иммунодефицитности и, соответственно, отсутствия патоморфологических изменений, обусловленных иммунным ответом против инфицированных клеток.

Тупай могут быть инфицированы HBV, но они также аутбредны, и использование их *in vivo* в качестве моделей требует предварительных исследований. Подвергшиеся двойной гуманизации мыши представляют перспективное направление для дальнейших исследований. Однако стабильность виремии напрямую зависит от степени гуманизации печени мыши введёнными гепатоцитами человека [102]. Кроме того, трансплантация (приживление) ксеногенной иммунной системы и печени индуцирует несоответствия в системе главного комплекса гистосовместимости, что оставляет открытым вопрос о релевантности механизмов распознавания и иммунных реакций против вируса в таких моделях.

Учитывая недоступность шимпанзе для исследования HBV, а также сходство иммунной системы и относительную доступность некоторых реагентов, нечеловекообразные приматы, вероятно, предоставляют самые надёжные данные об иммунитете для трансляционных исследований [46]. Однако эти результаты необходимо тщательно интерпретировать, перепроверяя в других биологических системах.

Новым витком является разработка животных моделей сочетанных с HBV социально значимых инфекций. При этом иммунодефицитность некоторых моделей может стать их преимуществом, как в случае имитации коинфекции HBV/HIV. С другой стороны, одновременное инфицирование двумя патогенами несёт риск существенного снижения качества жизни животного. Поэтому планирование подобных исследований должно рассматриваться этическими комитетами самым строгим образом.

При исследовании такого патогена, как HBV, не существует «бесполезных» моделей. Поэтому модели, способные продемонстрировать как долгосрочное развитие гепатопатии, так и иммунологические особенности инфекционного процесса *in vivo*, в дальнейшем получат большее распространение в изучении как гепатотропных вирусов, так и сочетанных с ними инфекций. Кроме того, выявление новых естественных резервуаров гепаднавирусных инфекций с целью расширения возможной модельной базы позволит пролить свет на происхождение и эволюцию HBV.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Miller R.H., Kaneko S., Chung C.T., et al. Compact organization of the hepatitis B virus genome. *Hepatology*. 1989;9(2):322–7. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.1840090226>

2. Song H., Xu F., Xiao Q., Tan G. Hepatitis B virus X protein and its host partners. *Cell. Mol. Immunol.* 2021;18(5):1345–6. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00674-z>
3. Seeger C., Mason W.S. Hepatitis B virus biology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000;64(1):51–68. DOI: <https://doi.org/10.1128/mmbr.64.1.51-68.2000>
4. Summers J., Mason W.S. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell.* 1982;29(2):403–15. DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90157-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90157-x)
5. Gerlich W.H. The enigma of concurrent hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to HBsAg. *Clin. Infect. Dis.* 2007;44(9):1170–2. DOI: <https://doi.org/10.1086/513296>
6. Tupoleva T.A., Ignatova E.N., Gulyaeva A.A., et al. The screening of donor blood on antibodies to nuclear antigen of hepatitis B virus as a tool of increasing of safety of transfusion for patients with diseases of blood system. *Klin. Lab. Diagn.* 2016;61(5):311–6. DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-5-311-316>
7. Aguilar J.C., Lobaina Y., Muzio V., et al. Development of a nasal vaccine for chronic hepatitis B infection that uses the ability of hepatitis B core antigen to stimulate a strong Th1 response against hepatitis B surface antigen. *Immunol. Cell Biol.* 2004;82(5):539–46. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0818-9641.2004.01278.x>
8. Bouchard M.J., Schneider R.J. The enigmatic X gene of hepatitis B virus. *J. Virol.* 2004;78(23):12725–34. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.78.23.12725-12734.2004>
9. Syed G.H., Wyles D.L., Siddiqui A. Hepatitis viruses. In: *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier;2014.
10. Warner N., Locarnini S. Replication of hepatitis B virus. In: *Zakim and Boyer's Hepatology*. Elsevier;2012:86–96.
11. Yan H., Peng B., Liu Y., et al. Viral entry of hepatitis B and D viruses and bile salts transportation share common molecular determinants on sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *J. Virol.* 2014;88(6):3273–84. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.03478-13>
12. Schieck A., Schulze A., Gähler C., et al. Hepatitis B virus hepatotropism is mediated by specific receptor recognition in the liver and not restricted to susceptible hosts. *Hepatology.* 2013;58(1):43–53. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.26211>
13. Lempp F.A., Wiedtke E., Qu B., et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is the limiting host factor of hepatitis B virus infection in macaque and pig hepatocytes. *Hepatology.* 2017;66(3):703–16. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.29112>
14. Mason W.S., Seal G., Summers J. Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. *J. Virol.* 1980;36(3):829–36. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.36.3.829-836.1980>
15. Tavis J.E., Massey B., Gong Y. The duck hepatitis B virus polymerase is activated by its RNA packaging signal, epsilon. *J. Virol.* 1998;72(7):5789–96. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.72.7.5789-5796.1998>
16. Tavis J.E., Ganem D. Evidence for activation of the hepatitis B virus polymerase by binding of its RNA template. *J. Virol.* 1996;70(9):5741–50. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.70.9.5741-5750.1996>
17. Beck J. dNTP versus NTP discrimination by phenylalanine 451 in duck hepatitis B virus P protein indicates a common structure of the dNTP-binding pocket with other reverse transcriptases. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(7):1679–87. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/30.7.1679>
18. Junker-Niepmann M., Bartenschlager R., Schaller H. A short cis-acting sequence is required for hepatitis B virus pregenome encapsidation and sufficient for packaging of foreign RNA. *EMBO J.* 1990;9(10):3389–96. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb07540.x>
19. Tavis J.E., Ganem D. RNA sequences controlling the initiation and transfer of duck hepatitis B virus minus-strand DNA. *J. Virol.* 1995;69(7):4283–91. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.69.7.4283-4291.1995>
20. Tuttleman J.S., Pourcel C., Summers J. Formation of the pool of covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. *Cell.* 1986;47(3):451–60. DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90602-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90602-1)
21. Wu T.T., Coates L., Aldrich C.E., et al. In hepatocytes infected with duck hepatitis B virus, the template for viral RNA synthesis is amplified by an intracellular pathway. *Virology.* 1990;175(1):255–61. DOI: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90206-7](https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90206-7)
22. Summers J., Smith P.M., Horwich A.L. Hepadnavirus envelope proteins regulate covalently closed circular DNA amplification. *J. Virol.* 1990;64(6):2819–24. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.64.6.2819-2824.1990>
23. Foster W.K., Miller D.S., Scougall C.A., et al. Effect of antiviral treatment with Entecavir on age- and dose-related outcomes of duck hepatitis B virus infection. *J. Virol.* 2005;79(9):5819–32. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.9.5819-5832.2005>
24. Colledge D., Civitico G., Locarnini S., Shaw T. In vitro antihepadnaviral activities of combinations of Penciclovir, lamivudine, and adefovir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000;44(3):551–60. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.44.3.551-560.2000>
25. Campagna M.R., Liu F., Mao R., et al. Sulfamoylbenzamide derivatives inhibit the assembly of hepatitis B virus nucleocapsids. *J. Virol.* 2013;87(12):6931–42. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.00582-13>
26. Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J. Gastroenterol.* 2007;13(1):14. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i1.14>
27. Tong S., Li J., Wands J.R. Carboxypeptidase D is an avian hepatitis B virus receptor. *J. Virol.* 1999;73(10):8696–702. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.73.10.8696-8702.1999>
28. Lanford R.E., Chavez D., Barrera A., Brasky K.M. An infectious clone of woolly monkey hepatitis B virus. *J. Virol.* 2003;77(14):7814–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.77.14.7814-7819.2003>
29. Mason W.S., Cullen J., Saputelli J., et al. Characterization of the antiviral effects of 2' carbodeoxyguanosine in ducks chronically infected with duck hepatitis B virus. *Hepatology.* 1994;19(2):398–411. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.1840190219>
30. Summers J., Smolec J.M., Snyder R. A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1978;75(9):4533–7. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.75.9.4533>
31. Mulrooney-Cousins P.M., Michalak T.I. Asymptomatic hepadnaviral persistence and its consequences in the woodchuck model of occult hepatitis B virus infection. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2015;3(3):211–9. DOI: <https://doi.org/10.14218/jcth.2015.00020>
32. Menne S., Tumas D.B., Liu K.H., et al. Sustained efficacy and seroconversion with the Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in the Woodchuck model of chronic hepatitis B. *J. Hepatol.* 2015;62(6):1237–45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.12.026>
33. Cheng H.R., Kao J.H., Wu H.L., et al. Clinical and virological features of occult hepatitis B in patients with HBsAg seroclearance post-treatment or spontaneously. *Liver. Int.* 2014;34(6):e71–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/liv.12324>
34. Liu Y., Wang B., Wang L., et al. Transcriptome analysis and comparison of *Marmota monax* and *Marmota himalayana*. *PLoS One.* 2016;11(11):e0165875. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165875>
35. Zhou T., Saputelli J., Aldrich C.E., et al. Emergence of drug-resistant populations of woodchuck hepatitis virus in woodchucks treated with the antiviral nucleoside lamivudine.

- Antimicrob. Agents. Chemother.* 1999;43(8):1947–54.
DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.43.8.1947>
36. Colonna R.J., Genovesi E.V., Medina L., et al. Long-term entecavir treatment results in sustained antiviral efficacy and prolonged life span in the woodchuck model of chronic hepatitis infection. *J. Infect. Dis.* 2001;184(10):1236–45.
DOI: <https://doi.org/10.1086/324003>
 37. Fairman J., Liu K.H., Menne S. Prevention of liver tumor formation in woodchucks with established hepatocellular carcinoma by treatment with cationic liposome-DNA complexes. *BMC Cancer.* 2017;17(1):172.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3163-2>
 38. Wang B., Zhu Z., Zhu B., et al. Nucleoside analogues alone or combined with vaccination prevent hepadnavirus viremia and induce protective immunity: Alternative strategy for hepatitis B virus post-exposure prophylaxis. *Antiviral. Res.* 2014;105:118–25.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.02.016>
 39. Li X., Zhang J., Yang Z., et al. The function of targeted host genes determines the oncogenicity of HBV integration in hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* 2014;60(5):975–84.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.12.014>
 40. He B., Li Z., Yang F., et al. Virome profiling of bats from Myanmar by metagenomic analysis of tissue samples reveals more novel mammalian viruses. *PLoS One.* 2013;8(4):e61950.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061950>
 41. Drexler J.F., Geipel A., König A., et al. Bats carry pathogenic hepadnaviruses antigenically related to hepatitis B virus and capable of infecting human hepatocytes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013;110(40):16151–6.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1308049110>
 42. Lanford R.E., Chavez D., Brasky K.M., et al. Isolation of a hepadnavirus from the woolly monkey, a New World primate. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998;95(10):5757–61.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.10.5757>
 43. Ange-van Heugten K.D., Burns R., Verstegen M.W.A., et al. Evaluation of diabetes determinants in woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha*). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.).* 2007;91(11-12):481–91.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00679.x>
 44. Hagell S., Whipple A.V., Chambers C.L. Population genetic patterns among social groups of the endangered Central American spider monkey (*Ateles geoffroyi*) in a human-dominated landscape. *Ecol. Evol.* 2013;3(5):1388–99.
DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.547>
 45. Chen C.Y., Winer B.Y., Chavez D., et al. Woolly monkey-HBV infection in squirrel monkeys as a surrogate non-human primate model of HBV infection. *Hepatol. Commun.* 2020;4(3):371–86.
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep4.1471>
 46. Dupinay T., Gheit T., Roques P., et al. Discovery of naturally occurring transmissible chronic hepatitis B virus infection among *Macaca fascicularis* from Mauritius island: Hepatology. *Hepatology.* 2013;58(5):1610–20.
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.26428>
 47. Burwitz B.J., Wettengel J.M., Mück-Häusl M.A., et al. Hepatocytic expression of human sodium-taurocholate cotransporting polypeptide enables hepatitis B virus infection of macaques. *Nat. Commun.* 2017;8(1):2146.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01953-y>
 48. Takeuchi J.S., Fukano K., Iwamoto M., et al. A single adaptive mutation in sodium taurocholate cotransporting polypeptide induced by hepadnaviruses determines virus species specificity. *J. Virol.* 2019;93(5):e01432-18.
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.01432-18>
 49. Chisari F.V., Pinkert C.A., Milich D.R., et al. A transgenic mouse model of the chronic hepatitis B surface antigen carrier state. *Science.* 1985;230(4730):1157–60.
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.3865369>
 50. Milich D.R., Jones J.E., Hughes J.L., et al. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1990;87(17):6599–603.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.87.17.6599>
 51. Kim C.M., Koike K., Saito I., et al. *HBx* gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature.* 1991;351(6324):317–20. DOI: <https://doi.org/10.1038/351317a0>
 52. Winer B.Y., Shirvani-Dastgerdi E., Bram Y., et al. Preclinical assessment of antiviral combination therapy in a genetically humanized mouse model for hepatitis delta virus infection. *Sci. Transl. Med.* 2018;10(447):eaap9328.
DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aap9328>
 53. Guidotti L.G., Matzke B., Schaller H., Chisari F.V. High-level hepatitis B virus replication in transgenic mice. *J. Virol.* 1995;69(10):6158–69.
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.69.10.6158-6169.1995>
 54. Wang Y., Chen K., Wu Z., et al. Immunizations with hepatitis B viral antigens and a TLR7/8 agonist adjuvant induce antigen-specific immune responses in HBV-transgenic mice. *Int. J. Infect. Dis.* 2014;29:31–6.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.07.015>
 55. Moriyama T., Guilhot S., Klopchin K., et al. Immunobiology and pathogenesis of hepatocellular injury in hepatitis B virus transgenic mice. *Science.* 1990;248(4953):361–4.
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1691527>
 56. Chisari F.V., Filippi P., McLachlan A., et al. Expression of hepatitis B virus large envelope polypeptide inhibits hepatitis B surface antigen secretion in transgenic mice. *J. Virol.* 1986;60(3):880–7.
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.60.3.880-887.1986>
 57. Tian Y., Kuo C.F., Akbari O., Ou J.H.J. Maternal-derived hepatitis B virus e antigen alters macrophage function in offspring to drive viral persistence after vertical transmission. *Immunity.* 2016;44(5):1204–14.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.04.008>
 58. Zhu H., Wang Y., Chen J., et al. Transgenic mice expressing hepatitis B virus X protein are more susceptible to carcinogen induced hepatocarcinogenesis. *Exp. Mol. Pathol.* 2004;76(1):44–50.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2003.09.001>
 59. McCaffrey A.P., Nakai H., Pandey K., et al. Inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference. *Nat. Biotechnol.* 2003;21(6):639–44. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt824>
 60. Julander J.G., Colonna R.J., Sidwell R.W., Morrey J.D. Characterization of antiviral activity of entecavir in transgenic mice expressing hepatitis B virus. *Antiviral. Res.* 2003;59(3):155–61.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(03\)00109-8](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(03)00109-8)
 61. Hong M., Bertoletti A. Tolerance and immunity to pathogens in early life: insights from HBV infection. *Semin. Immunopathol.* 2017;39(6):643–52.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0641-1>
 62. Wieland S.F., Guidotti L.G., Chisari F.V. Intrahepatic induction of alpha/beta interferon eliminates viral RNA-containing capsids in hepatitis B virus transgenic mice. *J. Virol.* 2000;74(9):4165–73.
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.74.9.4165-4173.2000>
 63. Guidotti L.G., Ishikawa T., Hobbs M.V., et al. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity.* 1996;4(1):25–36.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80295-2](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80295-2)
 64. Baron J.L., Gardiner L., Nishimura S., et al. Activation of a nonclassical NKT cell subset in a transgenic mouse model of hepatitis B virus infection. *Immunity.* 2002;16(4):583–94.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(02\)00305-9](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(02)00305-9)
 65. Publicover J., Goodsell A., Nishimura S., et al. IL-21 is pivotal in determining age-dependent effectiveness of immune responses in a mouse model of human hepatitis B. *J. Clin. Invest.* 2011;121(3):1154–62.
DOI: <https://doi.org/10.1172/jci44198>

66. Yang P.L., Althage A., Chung J., et al. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010;107(2):798–802.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0913498107>
67. Huang L.R., Gäbel Y.A., Graf S., et al. Transfer of HBV genomes using low doses of Adenovirus vectors leads to persistent infection in immune competent mice. *Gastroenterology.* 2012;142(7):1447–50.e3.
DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.03.006>
68. John von Freyend M., Untergasser A., Arzberger S., et al. Sequential control of hepatitis B virus in a mouse model of acute, self-resolving hepatitis B: Control of HBV infection in mice. *J. Viral. Hepat.* 2011;18(3):216–26.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2010.01302.x>
69. Yang D., Liu L., Zhu D., et al. A mouse model for HBV immunotolerance and immunotherapy. *Cell. Mol. Immunol.* 2014;11(1):71–8.
DOI: <https://doi.org/10.1038/cmi.2013.43>
70. Yang P.L., Althage A., Chung J., Chisari F.V. Hydrodynamic injection of viral DNA: A mouse model of acute hepatitis B virus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002;99(21):13825–30. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.202398599>
71. Huang L.R., Wu H.L., Chen P.J., Chen D.S. An immunocompetent mouse model for the tolerance of human chronic hepatitis B virus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006;103(47):17862–7.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0608578103>
72. Li G., Zhu Y., Shao D., et al. Recombinant covalently closed circular DNA of hepatitis B virus induces long-term viral persistence with chronic hepatitis in a mouse model. *Hepatology.* 2018;67(1):56–70.
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.29406>
73. Wu M., Wang C., Shi B., et al. A novel recombinant cccDNA-based mouse model with long term maintenance of rccDNA and antigenemia. *Antiviral. Res.* 2020;180:104826. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104826>
74. Ye L., Yu H., Li C., et al. Adeno-associated virus vector mediated delivery of the HBV genome induces chronic hepatitis B virus infection and liver fibrosis in mice. *PLoS One.* 2015;10(6):e0130052.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130052>
75. Vuyyuru R., Herzog-Hauff S., Tavakoli S., et al. Vaccination with dendritic cells induces strong HBV specific Th cell and CTL responses in HBV trimera mice. *Z. Gastroenterol.* 2007;45(01):A4_24.
DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2007-967882>
76. Schinazi R.F., Bassit L., Clayton M.M., et al. Evaluation of single and combination therapies with tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine *in vitro* and in a robust mouse model supporting high levels of hepatitis B virus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012;56(12):6186–91.
DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.01483-12>
77. Tsuge M., Hiraga N., Takaishi H., et al. Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology.* 2005;42(5):1046–54.
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.20892>
78. Meuleman P., Libbrecht L., De Vos R., et al. Morphological and biochemical characterization of a human liver in a uPA-SCID mouse chimera. *Hepatology.* 2005;41(4):847–56.
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.20657>
79. Meuleman P., Lerouxroels G. The human liver-uPA-SCID mouse: A model for the evaluation of antiviral compounds against HBV and HCV. *Antiviral. Res.* 2008;80(3):231–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2008.07.006>
80. Dalton G., Oh S.H., Premont R., et al. Hedgehog signaling directly regulates metabolism and proliferation in hepatocytes and is critical for normal liver regeneration following partial hepatectomy in mice. *Gastroenterology.* 2018;154(6):S-166. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(18\)30966-1](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(18)30966-1)
81. Bissig K.D., Wieland S.F., Tran P., et al. Human liver chimeric mice provide a model for hepatitis B and C virus infection and treatment. *J. Clin. Invest.* 2010;120(3):924–30.
DOI: <https://doi.org/10.1172/jci40094>
82. Long K.R., Lomonosova E., Li Q., et al. Efficacy of hepatitis B virus ribonuclease H inhibitors, a new class of replication antagonists, in FRG human liver chimeric mice. *Antiviral. Res.* 2018;149:41–7.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.008>
83. Ruan P., Yang C., Su J., et al. Histopathological changes in the liver of tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) persistently infected with hepatitis B virus. *Virology.* 2013;10(1):333. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-422x-10-333>
84. Fan Y., Huang Z.Y., Cao C.C., et al. Genome of the Chinese tree shrew. *Nat. Commun.* 2013;4(1):1426.
DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms2416>
85. Walter E., Keist R., Niederöst B., et al. Hepatitis B virus infection of tupaia hepatocytes *in vitro* and *in vivo*: Hepatitis B virus infection of tupaia hepatocytes *in vitro* and *in vivo*. *Hepatology.* 1996;24(1):1–5.
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.510240101>
86. Winer B.Y., Ding Q., Gaska J.M., Ploss A. In vivo models of hepatitis B and C virus infection. *FEBS Lett.* 2016;590(13):1987–99. DOI: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12157>
87. Yan H., Zhong G., Xu G., et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife.* 2012;1:e00049.
DOI: <https://doi.org/10.7554/elife.00049>
88. Köck J., Nassal M., MacNelly S., et al. Efficient infection of primary Tupaia hepatocytes with purified human and woolly monkey hepatitis B virus. *J. Virol.* 2001;75(11):5084–9.
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.75.11.5084-5089.2001>
89. Yang C., Ruan P., Ou C., et al. Chronic hepatitis B virus infection and occurrence of hepatocellular carcinoma in tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*). *Virology.* 2015;12(1):26. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0256-x>
90. Bility M.T., Cheng L., Zhang Z., et al. Hepatitis B virus infection and immunopathogenesis in a humanized mouse model: Induction of human-specific liver fibrosis and M2-like macrophages. *PLoS Pathog.* 2014;10(3):e1004032.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004032>
91. Dusséaux M., Masse-Ranson G., Darche S., et al. Viral load affects the immune response to HBV in mice with humanized immune system and liver. *Gastroenterology.* 2017;153(6):1647–61.e9.
DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.08.034>
92. Yuan L., Jiang J., Liu X., et al. HBV infection-induced liver cirrhosis development in dual-humanised mice with human bone mesenchymal stem cell transplantation. *Gut.* 2019;68(11):2044–56.
DOI: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316091>
93. Asabe S., Wieland S.F., Chattopadhyay P.K., et al. The size of the viral inoculum contributes to the outcome of hepatitis B virus infection. *J. Virol.* 2009;83(19):9652–62.
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.00867-09>
94. Wieland S.F. The chimpanzee model for hepatitis B virus infection. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015;5(6):a021469. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021469>
95. Gerety R.J., Tabor E., Purcell R.H., Tyeryar F.J. Summary of an international workshop on hepatitis B vaccines. *J. Infect. Dis.* 1979;140(4):642–8.
DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/140.4.642>
96. Payette P.J., Ma X., Weeratna R.D., et al. Testing of CpG-optimized protein and DNA vaccines against the hepatitis B virus in chimpanzees for immunogenicity and protection from challenge. *Intervirology.* 2006;49(3):144–51.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000089375>
97. Shata M.T.M., Pfahler W., Brotman B., et al. Attempted therapeutic immunization in a chimpanzee chronic HBV carrier

- with a high viral load. *J. Med. Primatol.* 2006;35(3):165–71. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.2006.00152.x>
98. Kamili S., Sozzi V., Thompson G., et al. Efficacy of hepatitis B vaccine against antiviral drug-resistant hepatitis B virus mutants in the chimpanzee model. *Hepatology.* 2009;49(5):1483–91. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.22796>
 99. Guidotti L.G., Rochford R., Chung J., et al. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science.* 1999;284(5415):825–9. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.284.5415.825>
 100. Lanford R.E., Guerra B., Chavez D., et al. GS-9620, an oral agonist of toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees. *Gastroenterology.* 2013;144(7):1508–17. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.003>
 101. Gheit T., Sekkat S., Cova L., et al. Experimental transfection of *Macaca sylvanus* with cloned human hepatitis B virus. *J. Gen. Virol.* 2002;83(7):1645–9. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-7-1645>
 102. Tham C.Y.L., Kah J., Tan A.T., et al. Hepatitis delta virus acts as an immunogenic adjuvant in hepatitis B virus-infected hepatocytes. *Cell Rep. Med.* 2020;1(4):100060. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100060>
 103. Netter H.J., Gerin J.L., Tennant B.C., Taylor J.M. Apparent helper-independent infection of woodchucks by hepatitis delta virus and subsequent rescue with woodchuck hepatitis virus. *J. Virol.* 1994;68(9):5344–50. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.68.9.5344-5350.1994>
 104. Mercer D.F., Schiller D.E., Elliott J.F., et al. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat. Med.* 2001;7(8):927–33. DOI: <https://doi.org/10.1038/90968>
 105. Amako Y., Tsukiyama-Kohara K., Katsume A., et al. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. *J. Virol.* 2010;84(1):303–11. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.01448-09>
 106. Sureau C. The role of the HBV envelope proteins in the HDV replication cycle. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2006;307:113–31. DOI: https://doi.org/10.1007/3-540-29802-9_6
 107. Gerin J.L. Animal models of hepatitis delta virus infection and disease. *ILAR J.* 2001;42(2):103–6. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.42.2.103>
 108. Porras-Ramírez A., Rico-Mendoza A. Coinfection of hepatitis B and C in HIV patients: a review of the state of the art. In: *Hepatitis B and C.* IntechOpen;2020. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.83704>
 109. Washburn M.L., Bility M.T., Zhang L., et al. A humanized mouse model to study hepatitis C virus infection, immune response, and liver disease. *Gastroenterology.* 2011;140(4):1334–44. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.001>
 110. Dagur R.S., Wang W., Makarov E., et al. Establishment of the dual humanized TK-NOG mouse model for HIV-associated liver pathogenesis. *J. Vis. Exp.* 2019;(151):10.3791/58645. DOI: <https://doi.org/10.3791/58645>
 111. Keng C.T., Sze C.W., Zheng D., et al. Characterisation of liver pathogenesis, human immune responses and drug testing in a humanised mouse model of HCV infection. *Gut.* 2016;65(10):1744–53. DOI: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307856>
 112. Arora U., Garg P., Agarwal S., et al. Complexities in the treatment of coinfection with HIV, hepatitis B, hepatitis C, and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 2021;21(12):e399–406. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30765-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30765-9)
 113. Mehra S., Alvarez X., Didier P.J., et al. Granuloma correlates of protection against tuberculosis and mechanisms of immune modulation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Infect. Dis.* 2013;207(7):1115–27. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jis778>
 114. North R.J. *Mycobacterium tuberculosis* is strikingly more virulent for mice when given via the respiratory than via the intravenous route. *J. Infect. Dis.* 1995;172(6):1550–3. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/172.6.1550>
 115. Calderon V.E., Valbuena G., Goez Y., et al. A humanized mouse model of tuberculosis. *PLoS One.* 2013;8(5):e63331. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063331>
 116. Zhan L., Ding H., Lin S., et al. Experimental *Mycobacterium tuberculosis* infection in the Chinese tree shrew. *FEMS Microbiol. Lett.* 2014;360(1):23–32. DOI: <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12524>
 117. Quinet J., Jamard C., Burtin M., et al. Nucleic acid polymer REP 2139 and nucleos(T)ide analogues act synergistically against chronic hepadnaviral infection *in vivo* in Pekin ducks. *Hepatology.* 2018;67(6):2127–40. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.29737>

Информация об авторах

Нагорных Алексей Михайлович[✉] — к.вет.н., с.н.с. научной группы разработки экспериментальных моделей лабораторной экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, nagornih@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-8320-2999>

Тюменцева Марина Алексеевна — к.б.н., зав. лабораторией геномного редактирования отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>

Тюменцев Александр Игоревич — к.б.н., зав. лабораторией экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>

Акимкин Василий Геннадиевич — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Участие авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 25.09.2023;
принята к публикации 13.11.2023;
опубликована 28.11.2023

Information about the authors

Aleksey M. Nagorniy[✉] — Cand. Sci. (Vet.), senior researcher, Scientific group of experimental models' development, Laboratory of experimental pharmacology, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, nagornih@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-8320-2999>

Marina A. Tyumentseva — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of genome editing, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>

Aleksandr I. Tyumentsev — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of experimental pharmacology, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>

Vasily G. Akimkin — D. Sci. (Med.), Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Author contribution. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 25.09.2023;
accepted for publication 13.11.2023;
published 28.11.2023