

单纯疱疹病毒 1 型 US11 免疫逃避机制的研究进展

童海燕 李国毅 汤颖

摘要 单纯疱疹病毒 1 型 (herpes simplex virus type 1, HSV-1) 是一种全世界流行的疱疹性疾病病原体, HSV-1 感染宿主后潜伏期长, 且极难根除。普通病毒感染宿主时机会产生一系列的抗病毒防御反应, HSV-1 具有一种天然 RNA 外壳蛋白——单纯疱疹病毒 US11 蛋白, 可对抗机体先天的免疫反应, 抑制抗病毒反应, 达到抑制病毒感染细胞的凋亡利于病毒复制的目的, 本文将对目前 HSV-1 的病毒特性及其皮层蛋白 US11 逃避机体免疫机制的最新进展做一综述。

关键词 单纯疱疹病毒 US11 干扰素

中图分类号 R74

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.07.005

单纯疱疹病毒 1 型 (HSV-1) 是一种人类常见的致病病毒。在临床上, 常见的感染有牙龈炎、角膜炎、脑炎、疱疹和生殖器疱疹等^[1,2]。HSV-1 在感染机体后可以在中枢神经系统长期潜伏, 并反复发作, 给患者带来极大的痛苦与困扰^[3]。尤其在免疫功能低下的人群中, 如新生儿、移植患者、艾滋病患者等, HSV-1 可能会导致毁灭性的严重感染和脑炎, 因此对 HSV-1 的病毒特性及其皮质蛋白 US11 逃避机体免疫机制的研究进展进行概括具有重要意义^[2]。

单纯疱疹病毒性脑炎是由 HSV 引起的一种严重的急性中枢神经系统感染性疾病。主要侵犯大脑的颞叶、额叶及边缘系统, 从而导致脑组织的出血及坏死, 占临床上所有脑炎的 5%~20%, 占病毒性脑炎的 20%~68%, 该病起病急骤, 且病情危重者, 如未经规范治疗, 或治疗不及时、不充分, 会导致不良预后, 病死率高达 60%~80%^[4]。目前认为, 单纯疱疹病毒性脑炎的病理变化除病毒直接损伤神经元与胶质细胞外, 病毒本身诱导的免疫炎症反应也同样具有关键作用, 并逐渐成为目前的研究热点^[5]。

一、单纯疱疹病毒感染主要的免疫反应

先天免疫反应是宿主机体的防御第一道防线, 可以限制大部分病毒的传播。适应性免疫应答的激活, 例如干扰素 (interferon, IFN) 抑制病毒的复制, 自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK cells) 介导的细胞溶解, 或特异性细胞免疫和体液免疫, 尤其是 CD8⁺ T 细胞

介导的细胞毒作用等, 同样对病毒的防御起着重要的作用^[6]。当病毒暴露在宿主细胞质中时, 感染病毒触发信号级联反应, 激活一系列转录因子包括 NF- κ B (nuclear factor kappa B), 干扰素调节因子, 最终导致 I 型干扰素产生和释放^[7]。I 型干扰素是宿主抗病毒免疫反应中的主要机制。因此 HSV 为了完成生命循环, 必须要调节宿主的干扰素的免疫应答反应, 进化出多种策略有效地逃避宿主的免疫监视和防御系统, 才能造成终身潜伏感染。HSV-1 是一个包含 80 多个基因的大 DNA 病毒, 其中很多基因参与编码与宿主病毒反应相关的蛋白。目前已有多项研究发现 US11 蛋白, 即 HSV-1 的一个天然 RNA 外壳蛋白, 是一种新型的抗病毒反应的拮抗剂, 目前有多项研究证明, HSV-1 US11 对机体的免疫防御系统有着明显的抑制作用^[8]。

二、单纯疱疹病毒 US11 蛋白的定义

US11 蛋白是 HSV-1 的一个天然 RNA 外壳蛋白, 对早期基因表达和 DNA 复制并不是必要的, 但是它却被发现, 在单纯疱疹病毒生命周期的后期阶段表达, 被包装在病毒颗粒的外被层^[2]。作为 HSV-1 中一个最丰富的病毒蛋白, US11 是一种新型的 IFN- β 阻断剂。已有研究证实 US11 可能参与对抗宿主细胞防御病毒的反应, 它的表达干扰了细胞对于 HSV 病毒感染后可出现的反应^[9,10]。US11 是一个由重复的精氨酸和富含脯氨酸的序列组成的核糖体相关蛋白质, 在核仁和细胞质中大量积累, 成熟的病毒衣壳上大约含有 1000 个 US11。US11 特有的双链 RNA (double strand RNA, dsRNA) 结合域是其发挥抑制反应必不可少的结构, 同时 US11 要通过基因 C-末端的一组 r-x-p 重复序列结合 dsRNA 后, 才能发挥

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (D201219)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学第一附属医院 (童海燕、汤颖); 200123 上海市东方医院 (李国毅)

通讯作者: 汤颖, 副教授, 硕士生导师, 电子信箱: hydtangying@hotmail.com

相关的免疫抑制功效^[2]。单纯疱疹病毒 US11 蛋白高度保守,除了 R-X-P 重复序列的数目。HSV-1 包含 20~24 个 R-X-P 重复序列,数目在毒株之间有差异。

疱疹病毒感染后,US11 所发挥的免疫抑制作用十分复杂。有研究发现 US11 通过结合细胞双链 RNA 依赖的蛋白激酶(the double stranded RNA-dependent protein kinase, PKR),及其激活剂 PACT(PKR-activating protein)干扰 PKR 介导的宿主细胞的反应^[10,11]。在正常的机体中 PKR 是重要的抗病毒蛋白,PKR 通过 I 型干扰素刺激后表达,是一种细胞干扰素诱导的抗病毒反应,能有效的抑制 HSV-1 的复制。除了 PKR 和 PACT 通路之外,HSV-1 US11 基因产物也能够对宿主防御的第 3 种关键蛋白 2',5'-寡腺苷酸合成酶(2'-5'oligoadenylate synthetase, OAS),有明显的抑制作用。已经证实在病毒的生命周期的不同时期,在不同的细胞器内,US11 有执行不同免疫抑制任务的潜力^[7,8,10]。

三、US11 抑制感染后的抗病毒作用

自噬是目前已知的宿主固有免疫和适应性免疫的重要组成部分,是一种进化上保守的自我调节机制,它参与了免疫系统对病原体的识别,帮助吞噬细胞清除细胞内外的病原体,对于组织的稳定和发展是至关重要的^[12]。研究人员发现 US11 的表达能阻断自噬以及 HeLa 细胞和成纤维细胞相关的自噬体形成,这其中 PKR 的表达以及 US11 PKR 结合域是 US11 的抗自噬活性所必需的^[13]。双链 RNA 依赖性蛋白激酶(PKR)是哺乳动物细胞中抗病毒先天免疫反应的关键调节,PKR 能被许多病毒激活,它的激活能够有效阻断病毒蛋白质的合成,从而抑制病毒的生产^[14]。US11 可以阻止 PKR 的激活,从而阻止 PKR 磷酸化核糖体翻译因子 eIF2 α 的合成,进一步抑制 PKR/eIF2 α 信号通路,使自噬体和溶酶体数量显著减少,达到阻断自噬的目的,使病毒在机体中复制扩散^[2,7,13]。

越来越多的证据证明,RIG-I 样受体(RIG-I like receptors,RLRs)是哺乳动物细胞介导的抗病毒免疫的关键部件,目前发现的属于 RLR 家族成员的主要包括 3 个:维甲酸诱导基因 I 型(retinoic acid inducible gene-I, RIG-I),黑色素瘤分化相关基因 5(melanoma-differentiation-associated gene 5, MDA5)和遗传学和生理学实验室蛋白 2(laboratory of genetics and physiology 2, LGP2)^[15]。病毒已经进化

出多种机制来抵消先天免疫中 RLR 介导的信号,US11 作为一个新的拮抗病毒介导的信号,也可与 RIG-I 和 MDA-5 结合,抑制 RLR 信号通路下游的激活。免疫共沉淀物的分析结果表明了 HSV-1 病毒感染细胞中的 US11 蛋白通过其 C-端结合域与内源性的 RIG-I 和 MDA-5 相互作用,在被病毒感染的细胞中 US11 的表达干涉了线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling, MAVS)和 RIG-I 或 MDA-5 之间的相互作用,US11 蛋白抑制了病毒的干扰素调节因子 3(interferon regulatory factor 3, IRF3)的激活,抑制了 IFN- β 的表达,同时阻止 RLR 信息通路下游活动,阻止了 IFN- β 的转录反应。总的来说,这些结果表明了通过 US11 蛋白阻止的 RIG-I 和 MDA-5,即干扰素 I 的产生通路,可能对研究 HSV-1 的发病原理有一定的贡献^[8]。

2'-5'寡腺苷酸(2'-5'OAS)在体内需要通过一系列相关合成酶生成,可全局的影响 RNA 稳定性,2'-5'OAS/RNase L 途径是 IFNs 刺激的经典抗病毒先天免疫反应。与 PKR, OAS 等缺乏规范 dsRNA 结合基序的途径不同,2'-5'OAS 主要是通过分子中电子通道识别 dsRNA。双链 RNA 结合后,酶的构象发生改变,导致寡腺苷酸的从头合成,促进活性 RNase L 的同型二聚体的形成,抑制了翻译,促进了 mRNA 的不稳定和 rRNA 的裂解,对病毒的复制造成重大的障碍。US11 是抑制 OAS 活性所需要的唯一的真正晚期基因,OAS 抑制活动是在病毒的生产生命周期的后期出现的,需要 US11 基因产物,HSV-1 感染后 US11 蛋白能有效抑制 2'-5'OAS 的合成,进而抑制 IFNs 途径的抗病毒作用^[7]。

细胞凋亡也是防御宿主病毒感染的一种重要机制,宿主通过清除受感染的细胞,限制了病毒复制^[16]。不过已有研究发现,HSV-1,可以编码多种特殊的蛋白,能够抵消 HSV 感染诱发的多种细胞凋亡形式,其中 US11 蛋白增强了细胞蛋白合成的恢复,也增加了细胞对于热应力反应的存活率。除此之外,US11 蛋白还被发现其能够高度减少凋亡细胞的数量,并抑制细胞色素 c 从线粒体释放及死亡因子半胱天冬酶-3(caspase-3)激活。不过目前针对此种病毒蛋白的抗凋亡作用尚未完全阐明,目前有研究怀疑存在于线粒体水平或其上游的某些信号通路,可能对 HSV-1 的成功复制同样起着关键的作用^[9]。

四、展 望

虽然目前针对 HSV 疫苗的发展,有可能使大部

分 HSV-1 感染疾病的发生率受到有效的控制,但是疱疹疫苗的批准及广泛使用,仍需要深入的研究及推广过程^[17]。目前单纯疱疹病毒感染治疗主要依靠阿昔洛韦 (acyclovir, ACV) 和喷昔洛韦 (penciclovir, PCV), 以及它们各自的前体药物伐昔洛韦和泛昔洛韦^[18]。使用 ACV 会导致 HSV 的耐药毒, HSV 的耐药株 1982 年就被发现, 以往认为在免疫系统正常的 HSV 患者中感染 ACV 耐药毒株比例为 0.6% 以下, 而近期报道耐 ACV 的病毒检出率已经高达 8%, 而在免疫功能缺陷的患者中耐药率更高^[19]。目前通过研究 US11 蛋白与抗病毒蛋白的相互作用可能对研究 HSV-1 的发病原理有一定的贡献, 而且随着生命科学相关领域的快速发展, 研究者对新型抗病毒药物及作用靶点都有了更加深刻了解, 有效地预防及治疗 HSV 相关疾病将为时不远^[8]。

参考文献

- Ren Z, Zhang CH, Wang LJ, *et al.* In vitro anti-viral activity of the total alkaloids from *Tripterygium hypoglaucum* against herpes simplex virus type 1[J]. *Virol Sin*, 2010, 25(2): 107-114
- Tohme S, Cukier CD, Severini A. RNA binding properties of the US11 protein from four primate herpesviruses[J]. *Virol J*, 2011, 8: 504
- 李深, 任哲, 王巧利, 等. 单纯疱疹病毒 1 型 US12 基因 siRNA 筛选及其对病毒增殖的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(3): 528-532
- 胡佳, 司洋, 李娟, 等. 单纯疱疹病毒性脑炎治疗措施的临床证据评价[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2011, 11(5): 518-521
- 周瑜, 郭远瑾, 梅元武. 糖皮质激素治疗对单纯疱疹病毒性脑炎预后的影响[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2009, 16(1): 30-34
- Lin A, Xu H, Yan W. Modulation of HLA expression in human cytomegalovirus immune evasion[J]. *Cell Mole Immunol*, 2007, 4(2): 91-98
- Sanchez R, Mohr I. Inhibition of cellular 2'-5' oligoadenylate synthetase by the herpes simplex virus type 1 US11 protein[J]. *J Virol*,

2007, 81(7): 3455-3464

- Xing J, Wang S, Lin R, *et al.* Herpes simplex virus 1 tegument protein US11 downmodulates the RLR signaling pathway via direct interaction with RIG-I and MDA-5[J]. *J Virol*, 2012, 86(7): 3528-3540
- Javouhey E, Gibert B, Arrigo AP, *et al.* Protection against heat and staurosporine mediated apoptosis by the HSV-1 US11 protein[J]. *Virology*, 2008, 376(1): 31-41
- Benboudjema L, Mulvey M, Gao Y, *et al.* Association of the herpes simplex virus type 1 Us11 gene product with the cellular kinesin light-chain-related protein PAT1 results in the redistribution of both polypeptides[J]. *J Virol*, 2003, 77(17): 9192-9203
- Bigley NJ. Complexity of Interferon-gamma Interactions with HSV-1[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 15
- 朱斐, 王微. 细胞自噬与病毒复制[J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36(5): 691-697
- Lussignol M, Queval C, Bernet-Camard MF, *et al.* The herpes simplex virus 1 Us11 protein inhibits autophagy through its interaction with the protein kinase PKR[J]. *Virol*, 2013, 87(2): 859-871
- Sharma K, Tripathi S, Ranjan P, *et al.* Influenza A virus nucleoprotein exploits Hsp40 to inhibit PKR activation[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20215
- 王国庆, 朱紫祥, 曹伟军, 等. RNA 病毒阻断 RIG-I 样受体识别 dsRNA 机制研究进展[J]. *病毒学报*, 2014, 29(6): 704-712
- 肖小强, 陈新华. 细胞凋亡信号途径与免疫系统之间的串流[J]. *生命的化学*, 2008, 28(6): 715-718
- Belshe RB, Leone PA, Bernstein DI, *et al.* Efficacy results of a trial of a herpes simplex vaccine[J]. *New Engl J Med*, 2012, 366(1): 34-43
- Piret J, Boivin G. Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management[J]. *Antimicrob Agent Chemoth*, 2011, 55(2): 459-472
- 刘军连, 徐志凯, 喻启桂. 单纯疱疹病毒 2 型药物敏感性测定及其阿昔洛韦耐药株的建立[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2010, 24(3): 219-220

(收稿日期: 2015-11-17)

(修回日期: 2015-12-18)

(上接第 14 页)

- Karretth FA, Tay Y, Perna D, *et al.* In vivo identification of tumor-suppressive PTEN ceRNAs in an oncogenic BRAF-induced mouse model of melanoma[J]. *Cell*, 2011, 147(2): 382-395
- Fang L, Du WW, Yang X, *et al.* Versican 3'-untranslated region (3'-UTR) functions as a ceRNA in inducing the development of hepatocellular carcinoma by regulating miRNA activity[J]. *F J*, 2013, 27(3): 907-919
- Sanchez-Diaz P, Penalva LO. Post-transcription meets post-genomic: the saga of RNA binding proteins in a new era[J]. *RNA Biol*, 2006, 3(3): 101-109
- Kundu P, Fabian MR, Sonenberg N, *et al.* HuR protein attenuates

miRNA-mediated repression by promoting miRISC dissociation from the target RNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(11): 5088-5100

- Srikantan S, Tominaga K, Gorospe M. Functional interplay between RNA-binding protein HuR and microRNAs[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2012, 13(4): 372-379
- Tang G, Yan J, Gu Y, *et al.* Construction of short tandem target mimic (STTM) to block the functions of plant and animal microRNAs[J]. *Methods*, 2012, 58(2): 118-125

(收稿日期: 2015-11-10)

(修回日期: 2015-12-18)