

腺病毒躲避细胞内吞消化和细胞的应对机制

胡辰 14307110163 生命科学学院

写在前面

这篇报告的话题来自于一个以前看过的 BBC 纪录片——《细胞的暗战》。主要讲述了腺病毒如何欺骗细胞表面受体侵入细胞，再利用内体进行部分脱壳，破坏内体膜之后，借助动力蛋白沿着微管接近细胞核，最后进行脱壳和复制。但是细胞对于腺病毒是否就束手无策了呢？并不是。细胞内存在一种高亲和性识别病毒表面附着抗体的分子，用以介导蛋白酶体途径的降解。

1.腺病毒概况

腺病毒(Adenovirus, Ad)是一种相对较大的, 没有包膜的双链 DNA 病毒, 呈正二十面体对称, 分子量约 150MDa, 直径约为 950 Å (不包括伸长的纤维蛋白)。腺病毒颗粒主要由核心、两种结构构件——五邻体和六邻体基质衣壳蛋白、外围衣壳组成。12 个五邻体的顶角有纤维突起, 有识别、血凝和抗原作用。

腺病毒对 pH、温度、离子强度有着极端的抗性, 可能归因于六邻体的紧密结构以及被称为在主要蛋白间的“黏固蛋白”的小衣壳蛋白。

腺病毒能在眼、呼吸道、胃肠道和尿道等的上皮细胞中增殖并引起疾病, 常见的可能引起婴儿和儿童的急性呼吸道感染、咽结膜热、病毒性肺炎等以及成人的流行性角膜结膜炎等。

尚无理想疫苗。

2.侵入的进程

2.1 腺病毒与受体相互作用

关键词: 纤维蛋白、CAR

Philipson 等 (1968) 首先证明了人类腺病毒 C 型 (HAdV-C) 延长的纤维蛋白与将病毒与宿主细胞的连接密切相关。随后 Bergelson 等 (1997) 发现一个分子量 46kDa 的膜蛋白参与了细胞和大多数种类但不是全部 HAdV 的接触, 被称作柯萨奇和腺病毒受体 (Coxsackie and Adenovirus Receptor, CAR)。

CAR 属于免疫球蛋白 (Ig) 超家族, 有典型的穿膜结构, 有 2 个类免疫球蛋白结构域。CAR 在极性上皮细胞的基底侧有表达, 就在紧密连接之下。纤维蛋白的 C-末端球状结构域与 CAR 第一个免疫球蛋白结构域构成复合物的晶体学分析显示出纤维有着多聚结合 CAR 的能力。这似乎也印证了腺病毒通过呼吸道上皮等组织入侵的可能。

但是不是所有种类的腺病毒都利用 CAR 进行接触和感染, 一些 HAdV-B 种类就被发现识别 CD46 (以膜辅助蛋白为人所知, MCP)。CD46 作为一种补体调节蛋白, 分布在包括造血干细胞在内的多种不同类型的细胞细胞膜上, 不像 CAR 一样限制分布在紧密连接之下。一些 HAdV-D 的种类则被报导有利用唾液酸作为受体而不是 CAR。而对于 HAdV-C 的 2 和 5 型, 硫酸乙酰肝素蛋白多糖可能作为结合病毒的乳铁蛋白的受体 (Shayakhmetov 等, 2005)。

体内感染时, 即使部分腺病毒纤维蛋白可能被抗体结合, 但是仍会存在可以与 CAR 结合的纤维蛋白结构域, 或是以其他途径介导进入细胞。

2.2 病毒内化

在与细胞表面受体结合之后不久, 腺病毒就进入了细胞。很多证据都表明, 腺病毒首先被内吞到内体复合体, 而不是直接穿过细胞膜。病毒的内吞过程还会减少多种细胞信使分子的激活, 包括 3-磷脂酰肌醇激酶 (PI3K)、p130CAS 以及小 GTP 酶的 Rho 家族 (Li 等, 1998, 2000)——这些激酶会减弱微丝聚集, 而微

丝正是病毒内化的有被小窝和囊泡所需的 (Wang 等, 1998, 2000)。同时也可能稳定了微管网络——这有利于病毒颗粒向细胞核的运输 (Warren 等, 2006; Warren 和 Cassimeris, 2007)。

2.3 内体中的部分脱壳

关键词： 早期内体, 蛋白 VI

内吞之后, 腺病毒依然相当于位于细胞外环境中。对于向细胞核传递病毒的基因组仍然有着三道清楚的障碍: 病毒的衣壳蛋白、内体膜以及核被膜。

顶点的分离发生在细胞膜或近细胞膜的位置, 究竟单单是纤维蛋白解聚, 还是整个五邻体都分离, 并没有可信服的研究解决了这个问题。

在顶点分离之后, 病毒在内体中进一步脱壳, 解离了包括了五邻体附近的六邻体、IIIa、VIII、IX 以及蛋白 VI 的释放。一个关键的发现是, 内体内脱壳和早期内体的穿透 (破坏) 是相互关联的。

蛋白 VI, 另外一种内的蛋白并没有暴露在衣壳的表面的, 出现在六邻体之下的腺病毒蛋白, 被发现有细胞溶作用, 被认为在腺病毒进入细胞进程中的内体膜破坏中起到作用 (Wiethoff 等, 2005)。

一个尚未解决的问题是 pH 是否触发了脱壳和膜的穿孔进程。虽然人们普遍认为, 内体内酸化的 pH 在这过程中起到作用, 但否是触发脱壳的原因上, 文献提供了互相矛盾的证据。

3. 细胞质运送

关键词： 六邻体, 胞质动力蛋白

对活细胞中的从内体中逃逸的病毒颗粒的衣壳追踪观察显示, 向微管“-”端和“+”端都有, 分别由胞质动力蛋白和驱动蛋白介导。在候选的蛋白中, 仅有六

邻体显示出了和胞质动力蛋白的相互作用。而六邻体的行为，被证明非常取决于溶液的环境（Bremner 等，2009）。在细胞外 pH 条件下（紫色表示），腺病毒与胞质动力蛋白作用极弱。病毒或者纯化的六邻体三聚物短暂地暴露在低 pH 条件下（绿色表示）——典型的内体腔环境，和动力蛋白的结合较中性条件增加。

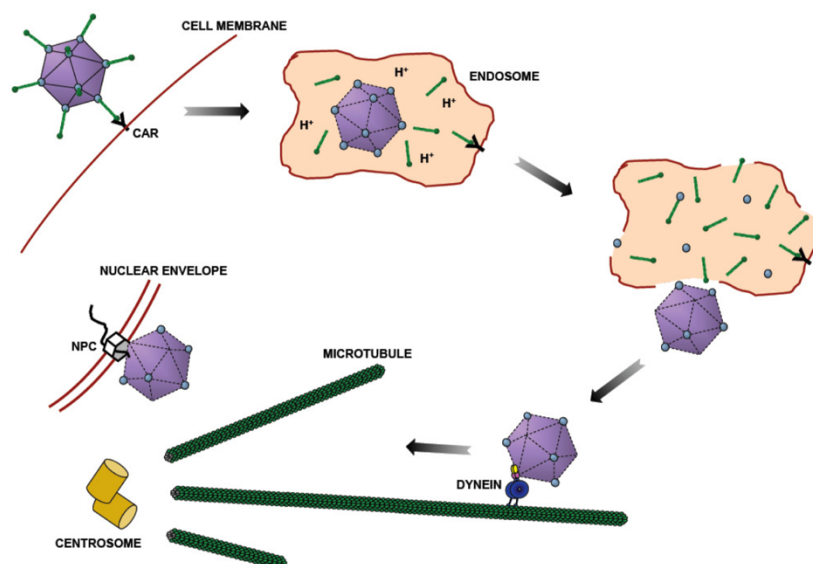


图 1.腺病毒进入通路示意图。腺病毒与细胞膜受体结合（如 CAR），腺病毒被内吞体摄入。在酸性的内体内腔中，一些衣壳蛋白分解释放。伴随内体的破坏，病毒颗粒释放，依附于动力蛋白沿微管向“-”端移动的，聚集到中心体，也就是细胞核的附近。通过核孔复合物释放 DNA 进行病毒复制。[引自 Julian Scherer and Richard B Vallee]

4.细胞内免疫应对机制

关键词：抗体、TRIM21、蛋白酶体

2010 年，一种细胞质蛋白——被称作 tripartite motif-containing 21 (TRIM21) 被英国的研究团队（Donna L. Mallery 和 Susanna R. Bidgood 等，2010）报导。这种分子有着结合抗体恒定区的能力，而且这种活性是结构的，热力学与动力学保证的。然而抗体是胞外蛋白，绝大多数的已知 IgG 受体也是如此（FcRn 是例

外，在胞内但是不在细胞质)。因此这看来似乎就十分不和谐——广泛分布的胞内蛋白，却是高特异性结合 IgG 的受体。于是作出假设：可能有着 TRIM21 介导的胞内的抗体作用机制。

4.1 TRIM21 介导了抗体对病毒的胞内中和

腺病毒的特性在于没有包膜，感染前衣壳可直接与抗体接触。可以发现抗体并不会阻止病毒内吞的进程，同时抗体在进程中依然与病毒相连。在所有的实验中，抗体中和作用都与 TRIM21 水平相关(图 5B、C)。抗体要能行使中和作用，必需包括 Fc 结构域，以及 TRIM21 的存在。IgM 作为免疫反应最先应答的抗体，同样可以与 TRIM21 介导中和作用，尽管效率低于 IgG。

4.2 TRIM21 介导免疫的机理

TRIM21 是多功能域蛋白，包括 RING，B 盒，蜷曲螺旋，以及 PRYSPRY 域。当与 IgG 混合时，形成一种一个 IgG 与一个 TRIM21 的计量结构。PRYSPRY 域是一个抗体结合域。

RING 域经常有着 E3 泛素连接酶的活性。E3 泛素连接酶被认为是一种自身泛素化酶。体外实验中，TRIM21 高效地形成了泛素链，而无论 IgG 或是病毒颗粒都没有发现泛素化。细胞有两种途径降解泛素化蛋白：蛋白酶体和细胞自噬。自噬抑制剂对感染并无影响，而 MG132(蛋白酶体抑制剂)可以阻碍 TRIM21 在感染中介导中和。通过观察六邻体水平衡量中和进程，添加 MG132 减缓了六邻体降解的速度，确认了病毒被蛋白酶体依赖的进程所降解。

5.讨论和展望

其他无包膜病毒亦有穿透内体膜的情况，如呼肠孤病毒的 $\mu 1$ 蛋白，在呼肠孤病毒穿过内体膜时起到作用。 $\mu 1$ 蛋白定位主要衣壳蛋白 $\sigma 3$ 之下。在肠道或内

体蛋白酶的消化下， $\mu 1$ 暴露出来，一个酰化 N-末端的 $\mu 1$ 多肽释放并结合在膜上，导致了膜上大小具有选择性的孔洞的形成。似乎可以横向比较病毒入侵策略的异同来研究病毒的进化关系，以及我们可能的防御手段。

TRIM21 结合抗体和自身泛素化来看，似乎这种胞内中和的机制并不需要和病毒的直接接触。那么这种并不直接作用于病毒的，TRIM21 介导的细胞内免疫同样可能对其他的无包膜病毒有效。那么通过激活 TRIM21 的表达可能就可以用于治疗无包膜病毒的安装。

对于其他种类的病毒感染，或许细胞内也有存在类似于抗体-TRIM21-蛋白酶体的，尚未发现、并不强烈地固有机制。在寻找药物治疗手段的同时，我认为研究固有机制也是一个有机会的方向。

参考资料：

- [1] Jacqueline MK, Christina LS. (2016) Bacterial Pathogens versus Autophagy: Implications for Therapeutic Interventions. *Trends Mol Med.* 22(12):1060-1076.
- [2] Scherer J, Vallee RB. (2011) Adenovirus recruits dynein by an evolutionary novel mechanism involving direct binding to pH-primed hexon. *Viruses.* 3(8):1417-31.
- [3] Smith JG, Wiethoff CM, Stewart PL, Nemerow GR. (2010) Adenovirus. *Curr Top Microbiol Immunol.* 343:195-224.
- [4] Mallery DL, McEwan WA, Bidgood SR, ..., Johnson CM, James LC. (2010) Antibodies mediate intracellular immunity through tripartite motif-containing 21 (TRIM21). *PNAS.* 107(46):19985-19990.

影像资料：BBC: Our secret universe-The hidden life of the cell

<http://www.bilibili.com/video/av2353261/>