

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0253-04

甲肝病毒诱导和抑制宿主先天性抗病毒反应的研究进展

杜江龙,薛宇佳,冶眩青,杨学财,曹欣*

西北民族大学生命科学与工程学院,兰州 730030

摘要:RNA 病毒通过病原相关模式识别受体 (PRR) 如 Toll 样受体 3, 视黄酸诱导基因 I (RIG-I) 和黑素瘤分化相关基因 5 (MDM5) 被识别。相关 PRR 激活可诱导 I 型干扰素 (Type 1 interferon, 如 IFN- α/β) 作为抵抗病毒的第一道防线。HAV 已经适应先天免疫系统并促进宿主细胞内的病毒复制。HAV 与宿主的长期适应性进化促进病毒逃逸的产生, 如 HAV 的蛋白酶可切割线粒体抗病毒信号蛋白, 诱导 IFN- β 的 TIR 结构域接头和核因子 κ B (NF- κ B) 必需调节因子, 它们分别是视黄酸诱导基因 I 样受体, Toll 样受体 3 和 NF- κ B 信号通路中的关键衔接蛋白。本文主要阐述 HAV 与宿主之间相互作用的最新进展, 重点关注 HAV 如何抵御先天性抗病毒免疫反应。

关键词:甲型肝炎病毒; 抗病毒信号蛋白; 结构域接头; I 型干扰素

中图分类号:R966

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.041

Advances in Research on Hepatitis A Virus Inducing and Inhibiting Host Innate Antiviral Response

DU Jiang-long, XUE Yu-jia, YE Xuan-qing, YANG Xue-cai, CAO Xin *

Northwest University For Nationalities, Lanzhou 730030, China

Abstract: RNA viruses were sensed by pathogen-associated pattern recognition receptors (PRRs), such as Toll-like receptor 3, retinoic acid-inducible gene I, and melanoma differentiation-associated gene 5. PRRs activation leads to production of Type 1 interferon (IFN- α/β), which serves as the first line to defend against viruses. HAV has developed various strategies to evade the innate immune system and promote viral replication inside the host cells. The long-term co-evolution of HAV with hosts has promoted the development of effective immune evasion strategies that actively counteract host antiviral responses. Proteases encoded by HAV can cleave mitochondrial antiviral signaling protein, TIR domain-containing adaptor inducing IFN- β and nuclear factor- κ B (NF- κ B) essential modulator, which are key adaptor proteins in RIG-I-like receptor, Toll-like receptor 3 and NF- κ B signaling, respectively. In this mini-review, we summarize the recent progress on the interaction between HAV and host, especially focusing on how HAV abrogates the antiviral effect of innate immune system.

Key words: HAV, MAVS, TRIF, Type 1 interferon

HAV 是没有包膜的正链 RNA 病毒。作为小核糖核酸病毒科 (Picornaviridae) 的一员, HAV 是肝病毒属 (Hepatic genus) 的唯一成员, 对人类肝细胞如与丙型肝炎病毒 (Hepatitis C virus, HCV) 一样具有强烈的嗜向性。HAV 基因组长约 7,500 个核苷酸, 并含有 5'-非翻译区、单个开放阅读框 (Single open reading frame, ORF) 和具有聚腺苷束的 3'-非翻译区。单个大的开放阅读框编码结构和非结构蛋

白^[1]。利用高分辨率 X 射线技术分析 HAV 成熟病毒和空颗粒。两种颗粒的结构几乎非常相似, 都形成二十面体蛋白衣壳。然而, HAV 成熟病毒具有小的病毒蛋白 VP4 (Small viral protein), 而空的颗粒仅含有未切割的前体 VPO^[2]。在非洲绿猴肾细胞^[3]上鉴定出 HAV 的一种假定受体, 即 HAV 细胞受体作为具有未知自然功能的整合膜粘蛋白样糖蛋白。人类同源物也被鉴定并表征为人类 HAV 受体^[4]。此外, Tim-3 和 HAV 特异性免疫球蛋白 A-HAV 细胞受体结合促进病毒进入靶细胞^[5]。HAV 劫持细胞膜形成包膜病毒, 从而保护病毒体免受抗体介导的中和作用^[6]。

收稿日期:2018-08-24 接受日期:2018-11-01

基金项目:甘肃省青年科技基金计划 (17JR5RA277); 国家自然科学基金(31700763, 81760287); 西北民族大学研究生科研(实践)创新项目(Yxm2018136, Yxm2018144)

* 通信作者 E-mail: worthy8686@sina.com

1 HAV 的多聚蛋白加工

单个开放阅读框编码长约 2230 个氨基酸的多聚蛋白,其被病毒编码的蛋白酶 3C_{pro} 水解成 10 种成熟蛋白^[7]。涉及 HAV RNA 复制的六种非结构蛋白源自多聚蛋白 P2,P3 片段:2B,2C,3A,3B,3C_{pro} 和 3D_{pol}。有趣的是,3A 针对线粒体膜^[8]。3C_{pro} 是半胱氨酸蛋白酶,而 3D_{pol} 是病毒 RNA 依赖性 RNA 聚合酶和复制酶复合物的催化核心^[9]。3ABC 加工中间体在小核糖核酸病毒中是独特的,因为它相对稳定并且在颗粒组装中具有不同的活性。在 3CD 位点处理比在 3AB 和 3BC 处更有效,而 3CD 如 3ABC 那样具有蛋白水解活性。

1.1 HAV 诱导天然抗病毒反应

肝细胞是 HAV 感染靶向的主要细胞类型,其表达视黄酸激活的基因 I 样受体 RNA 解旋酶和 Toll 样受体^[10]。视黄酸诱导基因 I,黑素瘤分化相关基因 5 和 Toll 样受体 3 是病原体相关的模式识别受体,其识别入侵的 RNA 病毒并刺激信号通路诱导抗病毒反应。视黄酸诱导基因 I 似乎是识别具有高亲和性的 5'-三磷酸基团和短(低分子量)RNA 的平端的主要识别受体^[11]。相反,黑素瘤分化相关基因 5 似乎是主要的识别受体,其以较弱的亲和力来感知长(高分子量)双链(ds)RNA 的内部双链体结构^[12]。据报道 LGP2(遗传学和生理学实验室 2)是一种细胞质 DExH 解旋酶,其共享视黄酸诱导基因 I 和黑素瘤分化相关基因 5 的域结构,但 caspase-募集域除外,其具有正面作用和负面作用^[13]对视黄酸诱导基因 I 和黑素瘤分化相关基因 5 调节不同细胞类型的反应。Toll 样受体 3 由胞外富含亮氨酸的重复基序,跨膜结构域和细胞内 Toll 和 IL-1R(TIR)结构域组成。长 dsRNAs 比短 dsRNA 更有效的诱导 Toll 样受体 3 信号传导^[14]。通过微阵列分析进行实验感染黑猩猩的急性 HAV 感染期间肝内转录组的变化。除了 CXCL10 和 ISG20 以外,它们都被 IFN- α/β 和 IFN- γ 双重调控,低水平的 ISG 诱导仅限于感染的头几周,并且在 HAV RNA 峰值肝脏。当 II 型 IFN(IFN- γ)反应变得明显时,早期 I 型 IFN 应答在肝脏内 HAV 的峰值复制和肝损伤发作之前减少^[15]。浆细胞样树突状细胞是“专职”I 型 IFN 产生细胞,在宿主抗病毒免疫中发挥重要作用。浆细胞样树突状细胞主要通过内体 Toll 样受体 7 和 Toll 样受体 9 感染病毒,但它们也可以感知细胞质中的病毒核酸^[15]。浆细胞样树突状细胞需要与 HAV 感

染的细胞紧密接触或暴露于浓缩的培养上清液中用于 IFN- α 产生。包膜病毒体,不是病毒 RNA 外体,来负责 IFN- α 的诱导。包膜不仅能保护 HAV 免于中和抗体,同时也有助于早期的有限的浆细胞样树突状细胞检测 HAV 感染^[15]。在急性甲型肝炎期间,非 HAV 特异性记忆 CD8 + T 细胞被 HAV 感染细胞产生的 IL-15 激活。这些 CD8 + T 细胞通过激活受体 NKG2D 和 NKp30 而没有 TCR 参与而产生天然样细胞毒性。CD8 + T 细胞的天然样细胞毒性与 AHA 中的肝损伤相关^[16]。除了肝细胞外,肝脏还含有高度丰富的自然杀伤细胞和自然杀伤 T 细胞,它们在激活时产生 IFN- γ ,并表现出针对病毒感染细胞的穿孔素依赖性细胞毒性。

1.2 HAV 通过靶向视黄酸诱导基因 I 样受体 / Toll 样受体途径来消除先天性抗病毒应答

有研究表明 HAV 通过干扰视黄酸诱导基因 I 介导的 IRF3 激活来抑制双链 RNA-诱导的 IFN β 基因表达。视黄酸诱导基因 I 和 MDA-5 都使用称为抗病毒信号蛋白的衔接蛋白,其通过 C-末端跨膜结构域定位于线粒体外膜^[17]。经视黄酸诱导基因 I 或 MDA-5 激活后,抗病毒信号蛋白募集并激活 TANK 结合激酶 1 和 NF- κ B 激酶 ϵ 抑制剂。TANK 结合激酶 1 和 NF- κ B 激酶 ϵ 都负责 IFN 调节因子 3 (IRF-3) 的磷酸化,最终导致 IRF-3 二聚化,核移位和 IFN β 转录的诱导。HAV 蛋白 3ABC_{pro} 和 2B 干扰抗病毒信号蛋白,从而破坏先天细胞抗病毒防御机制^[18]。MAABS 的 3ABC 切割需要 3C_{pro} 的蛋白酶活性和 3A 中指导 3ABC 至线粒体的跨膜结构域。非结构性 HAV 2B 蛋白与抗病毒信号蛋白部分共定位并干扰抗病毒信号蛋白和 TANK 结合激酶 1/NF- κ B 激酶 ϵ 的活性^[18]。但确切的机制仍然需要详细研究。Toll 样受体 3 信号通路仅由 TIR 结构域接头衔接子介导,TIR 结构域接头衔接子通过两个分子的 TIR 结构域之间的相互作用招募到 Toll 样受体 3。TIR 结构域接头被 3CD 蛋白水解切割,但成熟的 3C_{pro} 蛋白酶或降解抗病毒信号蛋白的 3ABC 前体无法切断。3CD 介导的 TIR 结构域接头降解取决于 3C_{pro} 和下游 3D_{pol} 序列的半胱氨酸蛋白酶活性,但不依赖 3D_{pol} 聚合酶活性^[19]。有研究显示必需调节因子连接 Toll 样受体 3-IRF3 途径。3C_{pro} 介导的必需调节因子蛋白水解切割直接参与抑制 IFN- β 转录^[20]。

1.3 NLR 蛋白质在 HAV 感染中的应用

Nod 样受体(Nod-like receptors, NLR)可以在宿主对 RNA 病毒感染的反应中发挥重要作用,既促进

和抑制先天免疫和炎症^[21]。值得注意的是,已显示活化的视黄酸诱导基因 I 与含有 caspase-募集域的凋亡相关斑点样蛋白相关以形成不依赖于 NLR 的视黄酸诱导基因 I 炎性复合体以诱导半胱天冬酶-1 活化,导致 IL-1 β 和 IL-18 版。Kupffer 细胞和单核细胞表达高水平的 NLRs,其在介导炎症反应和调节肝损伤中发挥重要作用。暴露于包膜病毒或 HAV 既不启动也不阻断 NLRP3 炎症小体组装或通过 THP-1 细胞分泌 IL-1 β ^[22]。尽管如此,NLRX1 在 T 抗原转化的成人肝细胞中非常早地(3 小时)正向调节视黄酸诱导基因 I 样受体诱导的对 HAV 的细胞因子应答。NLRX1 通过抑制 dsRNA 诱导的蛋白激酶 R 的活化来促进 IL-6 和其他早期细胞因子应答。蛋白激酶 R 激活的抑制使 IRF1 蛋白合成的早期病毒诱导增加,其在肝细胞中调节这些细胞因子应答中起关键作用^[22]。

1.4 先天免疫在宿主范围限制和 HAV 发病中的作用

HAV 宿主物种的范围很大程度上取决于其逃避抗病毒信号蛋白介导的 I 型 IFN 应答的能力,并揭示抗病毒信号蛋白信号传导在病毒介导的肝脏损伤中的意外作用^[23]。I 型 IFN 是 HAV 跨种感染的主要障碍。尽管 HAV 是靶向两种降解信号途径中的衔接子^[22],但在小鼠体内,抗病毒信号蛋白依赖性的视黄酸诱导基因 I 样受体诱导的 IFN 反应在限制 HAV 复制方面比体内 Toll 样受体 3 发挥更重要的作用。通过抗病毒信号蛋白对线粒体和线粒体相关膜的视黄酸诱导基因 I 样受体信号传导导致 I 型和 III 型干扰素的表达,而通过抗病毒信号蛋白对过氧化物酶体的视黄酸诱导基因 I 样受体信号传导仅诱导 III 型干扰素的表达^[24]。尽管 I 型 IFNs 在限制小鼠 HAV 感染中发挥了关键作用,但 III 型 IFN 主要在感染 HAV 的培养人肝细胞中检测到^[22]。如上所述,人肝细胞产生并强烈响应 IFN- λ ,但小鼠肝细胞表达量可忽略的 III 型 IFN 受体并对 IFN- λ 反应不佳^[24]。在缺乏 III 型 IFN 受体功能性表达的 Ifnlr1 $^{-/-}$ 小鼠中需要研究。

2 除视黄酸诱导基因 I 样受体之外的 DExD / H-Box 解旋酶的抗病毒应答

一些 DExD / H-Box 解旋酶可以作为真正的 RNA 传感器,其他则可能作为通过上述 RNA 传感途径之一促进先天免疫信号传导所需的辅助因子。有研究表明 DDX3(保守序列的 RNA 解旋酶家族 3)

结合来自 HIV 的复制(I: C),VSV RNA 和流产 RNA 产物^[25]。DHX9(人类 RNA 螺旋酶家族 9)被用作髓系树突状细胞病毒感染期间的 RNA 传感器。有报道称 DDX1,DDX21 和 DHX36 形成的胞质复合物感应 cDC 中的 dsRNA 以诱导干扰素响应聚(I: C),流感 A 病毒和呼肠孤病毒。DHX33 可作为胞质病原相关分子模式 RNA 的传感器并激活 NLRP3 炎性体^[26]。DHX15 可能在不同细胞类型的先天性免疫反应信号中发散^[27]。已显示 DDX60 是响应 dsRNA 或病毒感染的视黄酸诱导基因 I 介导的信号传导所必需的。通常涉及剪接体过程的小核核糖核蛋白 U5 亚基 200 蛋白与 TANK 结合激酶 1 缔合以在 SeV 感染期间激活 IRF3^[28]。HAV 与这些 DExD / H-Box Helicases 之间的相互作用需要在未来进行详细调查。

3 其他 RNA 结合蛋白的抗病毒反应

当通过与 dsRNA 结合而激活时,寡腺苷酸合成酶催化 ATP 转化成 2'-5' 连接的寡腺苷酸,其转而成为结合并激活 RNA 酶 L 的第二信使。RNA 酶 L 起到裂解 ssRNA 的作用,其产物可以合作触发视黄酸诱导基因 I 和黑素瘤分化相关基因 5 依赖性干扰素诱导。蛋白激酶 R 通过抑制真核翻译起始因子 2A 来抑制病毒感染细胞中的翻译^[29]。干扰素诱导蛋白具有十四肽重复序列蛋白质家族可以抑制病毒翻译并隔离病毒 RNA^[30]。LRRKIP1 激活 β -连环蛋白以增强 Ifnb1 的转录激活。IRFs 的 DNA 依赖性激活物,也称为 ZBP1 / DLM-1,可以激活 RIPK1 / 3 / MLKL^[31] 和 NLRP3 炎性体^[32]。高迁移率族框蛋白已经牵涉到干扰素和促炎反应的信号传导以控制病毒感染^[33]。上述 RNA 结合蛋白对 HAV 的影响尚未系统研究。

4 结语

在 HAV 感染的细胞中,病毒 dsRNA 复制中间体由细胞溶质视黄酸诱导基因 I 样受体(视黄酸诱导基因 I 和黑素瘤分化相关基因 5)以及内体 Toll 样受体 3 感知。然而,抗病毒信号蛋白衔接蛋白和 TIR 结构域接头以及 I κ B 激酶复合体必需调节因子的调节亚单位被病毒蛋白酶降解,破坏了从视黄酸诱导基因 I 样受体和 Toll 样受体 3 延伸的信号,使得很少或没有活化的 IRF3 和 NF- κ B 到达响应性启动子核,以及很少或不产生 IFN。在基础生物学水平上,尽管有许多有趣的特征,但 HAV 仍然是一个很大程度上受到怀疑的病毒。

参考文献

- 1 Debeng Y, et al. Molecular biology and inhibitors of hepatitis A virus[J]. *Med Res Rev*, 2014, 34: 895-917.
- 2 Wang P, et al. Nlrp6 regulates intestinal antiviral innate immunity[J]. *Science*, 2015, 350: 826-830.
- 3 Kaplan G, et al. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus[J]. *Embo J*, 1996, 15: 4282-4296.
- 4 Feigelstock D, et al. The human homolog of HAVcr-1 codes for a hepatitis A virus cellular receptor[J]. *J Virol*, 1998, 72: 6621.
- 5 Boulant S, et al. Dynamics of virus-receptor interactions in virus binding, signaling, and endocytosis[J]. *Viruses*, 2015, 7: 2794.
- 6 Feng Z, et al. A pathogenic picornavirus acquires an envelope by hijacking cellular membranes[J]. *Nature*, 2013, 496: 367-371.
- 7 Schutheiss T, et al. Proteinase 3C of hepatitis A virus(HAV) cleaves the HAV polyprotein P2-P3 at all sites including VP1/2A and 2A/2B[J]. *Virology*, 1994, 198: 275-81.
- 8 Heikenwalder M, et al. Innate immunity and disorders of the liver immunology [M]. New York: Springer International Publishing, 2014: 65-77.
- 9 McKnight KL, et al. Hepatitis A virus genome organization and replication strategy [J]. *CSH Perspect Med*, 2018: a033480.
- 10 Wang YZ, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate enhances poly I:C-induced interferon- λ 1 production and inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23: 5895-5903.
- 11 Ramanathan, et al. Structural basis of RNA recognition and activation by innate immune receptor RIG-I[J]. *Biophys J*, 2012, 102: 601a.
- 12 Kato H, et al. RIG-I-like receptors: cytoplasmic sensors for non-self RNA[J]. *Immunol Rev*, 2011, 243: 91-98.
- 13 Sanchez-Aparicio MT, et al. Paramyxovirus V proteins interact with the RIG-I/TRIM25 regulatory complex and inhibit RIG-I signaling[J]. *J Virol*, 2018, 92: 1960.
- 14 Holfeld J, et al. Low-energy shock wave treatment induces angiogenesis in ischemic muscle by stimulation of toll-like receptor 3 signaling[J]. *Thoracic & Cardiovas Sur*, 2016, 64: A18112.
- 15 Feng Z, et al. Human pDCs preferentially sense enveloped hepatitis A virions[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125: 169-176.
- 16 Kim J, et al. Innate-like cytotoxic function of bystander-activated CD8+ T cells is associated with liver injury in acute hepatitis A[J]. *Immunity*, 2018, 48: 161-173.
- 17 Wu Z, et al. UVB-induced ULBP1 upregulation in melanocytes depends on HMGB1-mediated activation of NF- κ B and IRF3[J]. *Cancer Res*, 2017, 77: 2012.
- 18 Weilandt R, et al. Mutational modifications of hepatitis A virus proteins 2B and 2C described for cell culture-adapted and attenuated virus are present in wild-type virus populations[J]. *Arch Virol*, 2014, 159: 2699-2704.
- 19 Heikenwalder M, et al. Innate immunity and disorders of the liver: Liver immunology [M]. New York: Springer International Publishing, 2014: 65-77.
- 20 Zhou J, et al. Assessing activity of hepatitis A virus 3C protease using a cyclized luciferase-based biosensor[J]. *Biochem & Biophys Res Commun*, 2017, 488: 621-627.
- 21 Silveira TN, et al. NLRP12 negatively regulates proinflammatory cytokine production and host defense against Brucella abortus[J]. *Eur J Immunol*, 2017, 47(1): 51-59.
- 22 Feng Z, et al. Innate immunity to enteric hepatitis viruses [J]. *CSH Perspect Med*, 2018, 4: a033464.
- 23 Hiraiyuki A, et al. MAVS-dependent host species range and pathogenicity of human hepatitis A virus[J]. *Science*, 2016, 353: 1541.
- 24 Chow KT, et al. RIG-I and other RNA sensors in antiviral immunity[J]. *Annu Rev Immunol*, 2018, 36: 667-694.
- 25 Gringhuis SI, et al. HIV-1 blocks the signaling adaptor MAVS to evade antiviral host defense after sensing of abortive HIV-1 RNA by the host helicase DDX3[J]. *Nat Immuno*, 2017, 18: 225-235.
- 26 Mitoma H, et al. The DEAH box RNA helicase DHX33 senses cytosolic RNA and activates the NLRP3 inflammasome [J]. *Immunity*, 2013, 39: 123.
- 27 Wang X, et al. Hepatitis A virus and the origins of picornaviruses[J]. *Nature*, 2015, 517: 85-88.
- 28 Tremblay N, et al. Correction: Spliceosome SNRNP200 promotes viral RNA sensing and IRF3 activation of antiviral response[J]. *Plos Pathogens*, 2016, 12: e1005772.
- 29 Hull CM, et al. Discriminating self and non-self by RNA: Roles for RNA structure, misfolding, and modification in regulating the innate immune sensor PKR[J]. *Acc Chem Res*, 2016, 49: 1242.
- 30 Fensterl V, et al. Interferon-induced ifit proteins: Their role in viral pathogenesis[J]. *J Virol*, 2015, 89: 2462-2468.
- 31 Thapa RJ, et al. DAI senses influenza A virus genomic RNA and activates RIPK3-dependent cell death[J]. *Cell Host & Microbe*, 2016, 20: 674-681.
- 32 Kuriakose T, et al. ZBP1/DAI is an innate sensor of influenza virus triggering the NLRP3 inflammasome and programmed cell death pathways[J]. *Sci Immunol*, 2016, 1: aag2045.
- 33 Ugrinova I, et al. HMGB1 protein: A therapeutic target inside and outside the cell[J]. *Adv Protein Chem & Struct Biol*, 2016, 107: 37.