

· 综述 ·

EV71的独特结构及其受体研究进展

林益敏 李建明 刘映霞

肠道病毒71型是人类肠道病毒的一种,是手足口病重症病例的主要致病原^[1]。目前,重症手足口病的发病机制并不完全清楚,临床上缺乏有效的抗病毒药物治疗及针对性的疫苗防治,故加强对EV71的研究显得尤其重要。本文主要从EV71独特的分子结构及受体等方面的研究进展进行如下综述。

一、EV71的独特结构

EV71是小RNA病毒科肠道病毒属的成员之一。该病毒颗粒为二十面体立体对称的球形结构,无包膜和突起,直径约24~30 nm,约7500个碱基,编码含2194个氨基酸的多聚蛋白^[2]。饶子和院士研究小组利用一种X射线衍射晶体分析技术确定了EV71病毒的精确结构,除发现与其他相关肠道病毒例如脊髓灰质炎病毒具有的一些相似特征外,研究人员同时也揭示出EV71独特的结构特征:一种通常定位在病毒保护壳口袋内,被称为“口袋因子”的分子在EV71病毒中部分暴露出来。当EV71病毒与人类细胞结合时,这一口袋因子会被挤出口袋,导致病毒颗粒失稳,随后分解并将其遗传物质释放到感染细胞中进行复制。研究发现, EV71病毒颗粒的高分辨率晶体结构有两种:空心病毒颗粒和实心病毒颗粒。病毒颗粒表面分布着90个规则小孔洞,病毒的基因可能通过这些孔洞进入人体细胞内。空心病毒颗粒是实心病毒颗粒的一个发展阶段,只有实心结构的病毒颗粒才会与人体细胞结合并复制,从而对人体疯狂进攻,最终对婴幼儿产生致命危害。由此可见,若能用小分子抑制剂阻止这些孔洞的形成从而阻断病毒在人体内复制,或许就能找到治疗EV71感染的特异性药物^[3]。Plevka等^[4]也进行了一项关于EV71晶体结构的研究发现与其它的肠道病毒不同的是, EV71的口袋因子是一种小分子化学结构,口袋因子主要暴露在表面壳蛋白(VP1)五聚体周围的峡谷的表面,能够加强病毒的稳定性并且保护病毒不受外界物质的侵害。由此可见口袋因子的存在,不仅有利于患儿在感染时病毒的大量复制传播,加速病情的进展,而且其在EV71病毒精细的自我保护程序中亦发挥了重要作用,使得EV71相关性手足口病患者治疗过程中抗病毒药物无法有效的发挥作用。

综上, EV71“口袋因子”的发现对深入研究该病毒侵入细胞的过程,探索病毒的致病机制及抗病毒

药物的研制提供了重要的研究依据。

二、EV71的特异性受体

病毒的特异性受体在诱导细胞发生内吞的过程中具有关键的作用。近期研究发现了两种较为明确的EV71受体,溶酶体整合膜蛋白II(SCARB2)及P选择素糖蛋白配体21(P-selectin glycoprotein ligand 21, PSGL21、CD162)。

SCARB是一种膜蛋白,其表达无处不在,主要是在溶酶体和内含体上,参与高密度脂蛋白和致病菌的内吞、内含体和溶酶体的重组等过程^[5]。Yamayoshi等^[6]研究显示RD细胞株(从人横纹肌肉瘤中建立的细胞株)对EV71易感,而鼠L929细胞株对EV71不敏感,将人基因组DNA(来自RD细胞)转化至鼠L929细胞后筛选到两株对EV71易感程度完全不同的转化细胞(Ltr051和Ltr246),当用从手足口病并发脑炎患儿的粪拭子中分离提取的EV71感染Ltr051和Ltr246后,发现Ltr051中可检测到高滴度水平的EV71复制,同时观察到细胞病变效应,Ltr246也能检测到EV71复制,但其病毒水平仅为Ltr051的2.7%,几乎无细胞病变效应。进一步研究发现Ltr051细胞膜上高表达SCARB2分子,其可与EV71直接特异性结合,支持EV71的黏附感染并产生细胞病变效应,这种感染能被抗-SCARB2或抗-SCARB2-FC阻断,而Ltr246细胞膜上缺乏SCARB2分子表达。提示SCARB2是EV71的一种特异性细胞受体。Lin等^[7]通过将SCARB2的基因表达在NIH3T3细胞内来研究EV71入侵和感染的机制中再一次证实了SCARB2是EV71的细胞受体,当用SinRNAs干扰法阻断SCARB2在3T3-SCARB细胞的表达后, EV71的入侵及后续的病毒衣壳蛋白的表达均受到抑制。Chen等^[8]研究证实了EV71病毒通过其表面壳蛋白(VP1)五聚体周围的“峡谷”区与SCARB2结合使病毒粒子构象发生变化,这种变化(160S~>135S)在病毒被内吞过程中显著增加而使病毒衣壳不稳定,最终导致病毒粒子释放病毒基因组RNA完成感染过程,且在pH依赖的内吞途径中入侵和感染宿主细胞。

PSGL-1也是一种膜蛋白,主要在人白细胞中持续性表达,通过与选择蛋白和趋化因子互相作用,在炎症早期过程中起作用。Nishimura等^[9]发现在重症EV71手足口病并发脑炎或神经源性肺水肿的患者中均存在明显的T细胞耗竭并产生大量的促炎性细胞因子,由此推断T细胞感染在EV71致病过程中起着重要作用。在此基础上研究人员用逆转录病毒载体建立了

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.04.041

基金项目: 深圳市新发传染病重点专科基金

作者单位: 510000 广州市, 中山大学附属第三医院(林益敏); 深圳市第三人民医院(李建明、刘映霞)

通讯作者: 刘映霞, yingxialiu@hotmail.com

对EV71易感的人类T细胞株 (Jurkat T cell) 的cDNA文库, 将该cDNA导入不受EV71感染的小鼠骨髓瘤细胞后, 发现能与EV71结合的鼠骨髓瘤细胞内均含编码PSGL-1的cDNA。进一步研究用EV71-1095病毒株感染已稳定表达PSGL-1的EV71非易感性的鼠L929细胞后, 检测到EV71病毒复制, 并观察到了L929细胞发生细胞病变效应, 而上述现象可被抗-PSGL-1所抑制。可见, T细胞表面表达的PSGL-1在EV71的感染过程中起着极其重要的作用。

作为EV71的特异性受体, Yamayoshi等^[10]最新研究对SCARB2与PSGL-1的功能进行了比较, 发现两种受体在功能上有很大的差异。研究人员分别构建了表达SCARB2及PSGL-1的细胞 (L-SCARB2细胞与L-PSGL1细胞), 用EV71病毒株感染两种细胞, 进而比较其感染EV71效率及结合EV71能力的差异, 结果显示, 与L-PSGL1细胞相比, L-SCARB2细胞仅能结合有限的EV71, 但其感染率却显著高于L-PSGL1细胞, 提示EV71的感染率并不由病毒与受体的结合能力决定。研究进一步用免疫荧光显微技术观察EV71侵入细胞的过程, 发现两种细胞中都有内在化的EV71-受体复合物; 随即用蔗糖密度梯度离心分离分析方法来评估病毒脱壳程度, 结果显示, 在EV71结合L-SCARB2细胞后, 在PH值为6的酸性环境中, 完整的EV71病毒颗粒可以转变为缺乏EV71RNA和VP4衣壳蛋白的空颗粒; 而EV71结合L-PSGL1细胞后, 在多个pH值得环境下均未发现病毒空颗粒形成。可见, 当形成内在化的EV71受体复合物后, EV71病毒脱壳过程必须具备SCARB2的存在及酸性两个条件。SCARB2在EV71结合受体、病毒内在化及脱衣壳全程中均发挥作用, 而PSGL1无法参与EV71的病毒脱衣壳过程, 因而其感染EV71的能力远低于SCARB2。

对于EV71受体的研究中, 除SCARB2与PSGL-1较为明确外, 也有其他受体的相关报道, 比如研究发现唾液酸化的葡聚糖如唾液酸连接的O2型聚糖 (SA-linked O-glycan) 可作为EV71受体介导EV71感染DLD-1肠细胞^[11]。可见可能存在更多未知的EV71受体, 而其他特异性受体的筛选、受体与病毒的相互作用的信号转导机制及各受体功能之间联系均有待更新

的探索。

三、结语

目前手足口病防控形势严峻, 尤其是EV71引起的重症手足口病给儿童健康带来严重的威胁, 今后的研究应加强EV71研究, 尤其是在病毒生物学水平、致病机制等方面把握病毒和宿主的关系, 寻找新的特异性EV71受体, 特别是嗜神经受体研究, 为特效的靶向药物及疫苗的研究提供科学依据。

参考文献

- 1 Tan X, Huang X, Zhu S, et al. The persistent circulation of enterovirus 71 in People's Republic of China: causing emerging nationwide epidemics since 2008. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25662.
- 2 Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10(11): 778-790.
- 3 Wang X, Peng W, Ren J, et al. A sensor-adaptor mechanism for enterovirus uncoating from structures of EV71. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(4): 424-429.
- 4 Chen P, Song Z, Qi Y, et al. Molecular determinants of EV71 entry. *Nat Med*, 2012, 18(10): 1274-1279.
- 5 Ikemoto M, Arai H. Scavenger receptor class B. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 1999, 44(Suppl 8): 1268-1276.
- 6 Yamayoshi S, Yamashita Y, Li J, et al. Scavenger receptor B2 is a cellular receptor for enterovirus 71. *Nat Med*, 2009, 15(7): 798-801.
- 7 Lin YW, Lin HY, Tsou YL, et al. Human SCARB2-mediated entry and endocytosis of EV71. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30507.
- 8 Chen P, Song Z, Qi Y, et al. Molecular determinants of enterovirus 71 viral entry: cleft around GLN-172 on VP1 protein interacts with variable region on scavenger receptor B 2. *J Biol Chem*, 2012, 287(9): 6406-6420.
- 9 Nishimura Y, Shimojima M, Tano Y, et al. Human P-selectin glycoprotein ligand-1 is a functional receptor for enterovirus 71. *Nat Med*, 2009, 15(7): 794-797.
- 10 Yamayoshi S, Ohka S, Fujii K, et al. Functional comparison of SCARB2 and PSGL1 as receptors for EV71. *J Virol*, 2013, 87(6): 3335-3347.
- 11 Yang B, Chuang H, Yang KD. Sialylated glycans as receptor and inhibitor of enterovirus 71 infection to DLD-1 intestinal cells. *Virology*, 2009, 6: 141.

(收稿日期: 2012-12-05)

(本文编辑: 孙荣华)