

·综述·

病毒逃逸补体的机制

欧元祝 综述 瞿 涿 审校

补体系统是宿主免疫防御外来病原体的第 1 道防线,包括对病毒的防御。补体系统可通过黏附在病原体表面利于宿主细胞吞噬、形成膜攻击复合体导致病原体溶解、释放过敏毒素引起炎症反应等多条途径清除外来病原体。然而,在与宿主一起进化的过程中,某些病毒已经建立了逃逸补体系统的策略,这些策略包括编码补体调控蛋白、从宿主获得膜调控蛋白以及利用宿主膜补体受体进入宿主细胞。本文就病毒逃逸补体系统作用的策略的研究进展作一综述。

病毒编码补体调控蛋白

DNA 序列分析显示许多病毒基因与补体调控蛋白(complement control protein, CCP)超家族的序列同源性相当高。痘病毒和疱疹病毒这 2 类病毒是现在已知能够编码蛋白调节补体活性的病毒家族。

1. 痘病毒 首先注意到且研究最深入的是痘病毒补体调节蛋白(VCP),VCP 是由痘病毒基因 C3L 编码,由痘病毒感染的细胞分泌的相对分子质量(M_r)为 35×10^3 的蛋白。VCP 含有约 60 个氨基酸的 4 个短共有重复序列(short consensus repeat, SCR),SCR 也出现在真核细胞的补体调控蛋白上,故有时又称为 CCP。VCP 能与 C3b、C4b 结合作为补体调节因子 1 的辅因子抑制 C3 和 C5 转换酶,从而下调补体激活的经典途径和替代途径,这种途径类似于一些补体调控蛋白的作用,如膜辅因子蛋白(MCP/CD46)、衰变加速因子(DAF)、H 因子(FH)和 C4b 结合蛋白(C4BP)等,这些调控蛋白都含有 4~56 个不等的 SCR。VCP 并不与 C3b、C4b 同时结合,其与 C4b 结合的亲和力是与 C3b 的 4.6 倍^[1]。VCP 与 H 因子、C4b 结合蛋白共同具有的另一个重要特征是能与肝素(heparin)结合,H 因子与肝素的相互作用是其调节替代途径激活的重要步骤;VCP 与肝素或

其他黏多糖结合在病毒感染周期中起着重要的作用,它能使病毒在宿主细胞内长期驻留,修饰宿主的化学趋化反应,使病毒逃逸宿主的免疫反应^[2];VCP 包含 2 个假设的肝素结合位点:第 1 个在 SCR1-2 的交联处,第 2 个在 SCR4 上^[3]。Isaacs 等^[4]利用单克隆抗体阻断实验,发现参与 VCP 与 C3b/C4b 结合的结构位于 SCR 序列的 2~4 之间,同时认为抗 VCP 的单克隆抗体可以作为 VCP 补体调节活性的治疗性抑制剂,也为制备痘苗病毒疫苗提供了 1 条新的途径。VCP 能够抑制补体促进抗体中和细胞内成熟的病毒颗粒(IMV)的作用和 VCP 突变株的毒力下降,这些都表明补体激活在体内起着重要的抗病毒作用,而 VCP 具有协助痘病毒逃逸宿主的防御系统的作用。此外,痘病毒编码另一个氨基酸序列与补体调控蛋白同源的蛋白 B5R, B5R 是 1 个 M_r 为 42×10^3 的膜结合糖蛋白,包含 4 个 SCR。该糖蛋白是细胞外膜蛋白颗粒(extracellular enveloped virus, EEV)的外膜蛋白,是 EEV 形成和病毒毒力所必需的,但它与人 CR2 一样对补体活性并没有抑制作用。

在补体逃逸方面研究较多的另一痘病毒是天花病毒(Variola virus),它编码 1 个叫补体酶天花抑制剂(smallpox inhibitor of complement enzymes, SPICE)的蛋白。SPICE 由天花病毒的 D15L 的末端区编码,与 VCP 在结构上仅有 4.6% (11 个)的氨基酸序列不同,也含有 4 个 SCR,而不同的 11 个氨基酸分布在 SCR2、3、4 上。SPICE 具有与 VCP 相同的作用作为补体调节因子 1 的辅因子抑制补体活性,但是它灭活人 C3b 的效力却是 VCP 的 100 倍,灭活 C4b 的效力是 VCP 的 6 倍^[5],这表明 11 个差异氨基酸可能在 SPICE 功能增强中起着关键作用。SPICE 虽然与 VCP 在结构上有高度同源性,但 SPICE 在作用能力、人类补体特异性及辅因子活性方面显然比 VCP 更接近人补体调控蛋白。

近年来,一些潜在的补体系统调节因子已经在其他的痘病毒内被识别,如牛痘病毒(cowpox virus)的炎症调节蛋白(inflammation modulatory protein,

作者单位:200032 上海,复旦大学上海医学院医学分子病毒学重点实验室

通讯作者:瞿 涿, E-mail: dqu@shmu.edu.cn

IMP)、黏液瘤病毒(myxoma virus)的 M144R 蛋白、Yaba 样病毒(Yaba-like disease virus)及猪痘病毒(swinepox virus)的蛋白,这些蛋白在氨基酸序列上都与哺乳动物补体调控蛋白及痘苗病毒的 VCP 有同源性^[6,7]。

2. 疱疹病毒 松鼠猴疱疹病毒(Herpesvirus saimiri, HVS)基因组的 ORF4 和 ORF15 的产物序列与补体调控蛋白有同源性。ORF4 编码的产物被称为补体调控同源蛋白(complement control protein homologue, CCPH),它与 VCP 及补体调控蛋白家族的成员如膜辅因子蛋白(MCP/CD46)、衰变加速因子(DAF)、I 因子(FI)和 C4b 结合蛋白(C4BP)、CR1、CR2 在氨基酸序列上有高度同源性,CCPH 有 360 个氨基酸,含有 4 个 SCR 基序。ORF4 基因的转录以未拼接和拼接的形式存在,未拼接的 CCPH mRNA 翻译为膜结合蛋白(mCCPH),拼接的 mRNA 翻译为分泌蛋白(sCCPH)。带有 CCPH 的被转染细胞能够抑制 C3 转换酶的活性,有效地降低了细胞表面 C3 的沉积,增强细胞对补体溶细胞作用的抵抗性^[8]。松鼠猴疱疹病毒的 ORF15 编码蛋白称为 HVS-15,与人 CD59 有 48%同源,与松鼠猴 CD59 有 69%同源。在哺乳类动物,CD59 可与 C5b-8 复合体中的 C8 结合,阻止 C9 分子的黏附,从而抑制 C5b-9 复合体对细胞的裂解作用^[9]。因此,可见松鼠猴疱疹病毒编码的 2 个补体调控蛋白在补体激活的 2 个不同时期发挥着作用。

卡波济肉瘤相关疱疹病毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)又叫人类疱疹病毒 8 型(human herpesvirus 8, HHV-8),是继 EB 病毒后第 1 个被识别的丙型疱疹病毒,其基因组测序表明 ORF4 的结构与人补体调控蛋白(CCP)超家族有同源性。由于拼接结果,ORF4 编码的蛋白有 3 个亚型,2 个为 550 个氨基酸的膜结合蛋白,在 517~545 氨基酸处有 1 个跨膜区;另 1 个为略短些的分泌型,不含跨膜区。这 3 个亚型合称为 KCP(KSHV complement control protein),KCP 与人 CCP 家族的 CR1、CR2、DAF、MCP、I 因子及 C4bp 有 44%~55%的同源性,含有 4 个 SCR 基序^[10]。同源比较显示 KCP 的 SCR1-3 与 DAF 的 SCR2-4 同源性最高,但 DAF 的 SCR1 区被报道是补体调控所必需的,这表明 KCP 的 SCR4 区也可能是抑制补体所需要的^[11]。KCP 抑制补体系统也是在 C3 转换酶水平,其通过 2 种机制抑制 C3 转换酶:一方面它能直接加速经典途径 C3 转换酶的衰变,另一方面作为 I 因子裂解 C3b 和

C4b 的辅因子抑制 C3 转换酶^[12]。Mark 等^[13]的研究显示与 C4b 结合、C4b 裂解的辅因子作用及衰变加速等作用都需要 SCR1-3 区,而 KCP 在与 C3b 的相互作用中需要 SCR4。

鼠丙型疱疹病毒 68(Murine gamma herpesvirus 68, MHV-68)是 1 个与灵长类丙型疱疹病毒密切相关的病毒,它也被观察到有个保守 ORF 能编码含 4 个 SCR 基序的蛋白,此蛋白包括膜结合和 2 个分泌型亚型,能够下调鼠补体激活的经典途径和替代途径^[6]。

结构不同于 CCP 的病毒蛋白亦可具有拮抗补体的作用。单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)1 型、2 型都能编码保守的病毒糖蛋白 C(glycoprotein C, gC),此 gC 对在培养的细胞内复制并不是必需的,然而从临床病人分离得到的病毒株几乎都能表达 gC,表明 gC 是病毒的一个重要的毒力因子。HSV-1 和 HSV-2 的糖蛋白 gC(分别命名为 gC1 和 gC2)在基因序列上有很高的同源性,在各自的基因组上处于相同位置,但它们都与补体调控蛋白家族无同源性^[6]。gC1 和 gC2 均能与人 C3、C3b、iC3b、C3c 结合,而不与 C3d 结合;但在病毒感染的细胞,只有 gC1 能充当 C3b 的受体,但近年研究表明 gC2 与 C3b 结合的亲和力是 gC1 的 10 倍^[14]。gC1 还能阻断备解素(properdin)和 C5 结合到 C3b 而加速 C3 转换酶复合体的解离,但 gC2 并没有此功能。gC1 并不像其他补体调控蛋白那样抑制替代途径的 C3 转换酶(C3b, Bb)的构象,而是加速 C3b 和 Bb 的裂解,但 gC1、gC2 都不通过辅助 I 因子介导 C3b 或 C4b 的灭活。通过插入和敲除的方法发现 gC1 上有 4 个独立区域,gC2 上有 3 个独立区域为 C3b 结合位点,这些 C3b 结合位点都位于糖蛋白的中间位置。gC1 N 端(33~123 氨基酸残基)并不参与 C3b 的结合,而是抑制备解素和 C5 结合到 C3b 所需要的,这显示此区域的空间结构阻止了备解素与 C5 进入 C3b 的结合位点。Lubinski 等^[15]在研究 gC1 区域与补体相互作用时发现 C3 结合区比 C5/P 阻断区更重要,提示 C3 结合区在 HSV-1 补体逃逸中占主要地位。C3b 结合区和糖蛋白 E(gE)的 IgG 结合区同时被突变的 HSV 双点突变株对特异性抗体和补体的攻击比单点突变株要敏感得多,提示病毒在补体激活的各个阶段的作用具有协同效应。HSV 的 gC1 阴性突变株在自然界极为罕见,也提示 gC1 对病毒的重要性。

病毒获得宿主的补体调控蛋白

一些补体调控蛋白如 MCP(CD46)、DAF

(CD55)、CD59 能表达在哺乳动物细胞表面使宿主免受由于补体激活引发的负效应,而一部分有包膜病毒在其装配成熟释放时,能捕获 1 个或多个宿主细胞的补体调控蛋白用以逃逸补体的攻击。这些病毒如人巨细胞病毒(HCMV)、疱疹病毒、人 T 细胞白血病病毒 1 型(HTLV-1)、人类免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)以及猿免疫缺陷病毒(SIV)等属于反转录病毒或痘病毒,但补体调控蛋白被捕获入病毒包膜的机制并不太清楚^[8]。近年来的一些研究已经明显显示如 HIV、埃博拉病毒、流感病毒及麻疹病毒等包膜病毒的出芽并不是随意发生在浆膜,而是发生在一些醇和磷脂富集的特殊区域,此区域被称为脂筏(lipid rafts)。被磷脂酰肌醇(GPI)锚定的补体调控蛋白如 CD55、CD59 就被证实与这种脂筏有关。虽然这种假说还有待进一步证实,但近年的一些研究表明破坏脂筏能够降低 HIV 包膜上 CD59 的数量^[16]。

HCMV 病毒颗粒中的补体调节作用类似于 MCP 与 DAF 的调节作用,这种调节作用能被 MCP 和 DAF 的特异性单克隆抗体阻断;从病毒包膜中去除这些蛋白可提高补体介导的失活,重建 MCP 与 DAF 的活性后又恢复了对补体袭击的抵抗性。HIV-1 从宿主细胞出芽时能获得补体调控蛋白 DAF 和 CD59,从而拥有抵抗补体介导的细胞溶解作用的能力。此外, H 因子通过与病毒包膜蛋白的相互作用也能保护 HIV-1 免受补体的攻击, H 因子被证实是与包膜蛋白 gp41 及 gp120 相互作用,去除血清中的 H 因子能导致病毒颗粒的溶解。HTLV-1 能捕获宿主细胞的补体调控蛋白 CD55 及 CD59 进入其包膜,用特异性的磷脂酰肌醇脂酶去除被糖基化的磷脂酰肌醇锚定的 CD55 与 CD59 能提高补体介导的溶病毒作用^[17]。

病毒以补体受体作为感染宿主细胞的工具

病毒不仅具有逃逸补体攻击的策略并能利用补体成分作为受体进入细胞,目前已知至少有 5 个病毒家族能通过补体受体相互作用进入宿主细胞,见表 1^[8]。

在补体受体方面研究最多的病毒是 EB 病毒,它能够通过 CR2 感染 B 细胞与上皮细胞,与 CR2 结合的病毒配体主要是糖蛋白 gp350/220。与 CR2 的生理配体 C3d 相似, gp350/220 也是与 CR2 的前 2 个 SCR 基序相互作用,利用单克隆抗体竞争,肽谱分析以及定向突变等方法发现 CR2 在 gp350/220 上的结合位点位于病毒糖蛋白的第 1~470 个氨基酸残基

内。相比 C3 片段, CR2 与 gp350/220 有更高的亲和力,这也使得补体受体能更好地竞争 gp350/220,这种精细的策略可能有助于病毒更好地感染 B 细胞^[18]。麻疹病毒是另一个利用 MCP 作为受体开始感染的例子,麻疹病毒的进入是由它的表面糖蛋白 H 与 MCP 相互作用介导的, MCP 与血凝素作用的区域已被证实是前 2 个 SCR 基序,而 SCR2 的 N-聚糖被认为是病毒结合的重要位置^[19]。除麻疹病毒外,人疱疹病毒 6 型(HHV-6)也利用 MCP 作为一个细胞受体。一部分微小 RNA 病毒包括埃可病毒、柯萨奇病毒都是利用 DAF 作为一个细胞表面受体,这些病毒即使是种属非常接近也都与 DAF 上不同的 SCR 基序结合。目前观点认为, DAF 与病毒结合在病毒进入宿主细胞的起始阶段起作用,同时它能使病毒与第 2 个受体或分子作用,而这是病毒进入宿主细胞的关键步骤^[8]。经过调理素 C3b 调理过的 HIV 病毒颗粒具有与补体受体 CR1、CR2、CR3 作用的能力,早在 20 世纪 80 年代末期就已证明经抗体和补体处理过的 HIV 病毒能导致 HIV 感染能力的增加,现在普遍认为经调理过的 HIV 病毒颗粒与补体受体结合或有助于提高 CD4 依赖的进入与感染或会让病毒颗粒更有效地转移到 T 细胞上。

研究病毒不断与宿主补体系统建立的相互作用,不但可以了解病毒适应宿主防御系统的进化过程,也能更好地了解病毒补体逃逸的分子结构特征,从而识别一些重要调控分子以发展中和病毒的药物配体,达到抗病毒的目的。

表 1 利用补体受体进入细胞的病毒

病毒家族	病 毒	病毒中的配体成分	作为病毒受体的补体成分
疱疹病毒	EBV	gp350/220	CR2
副粘病毒	HHV-6	未知	MCP
	麻疹病毒	血凝素	MCP
微小 RNA 病毒	埃可病毒	未知	DAF
	柯萨奇病毒	未知	DAF
反转录病毒	HIV		CR1、CR2、CR3

注:与其他病毒不同, HIV 与补体受体的结合是由于其表面存在 C3 片段而不是其表面蛋白与补体受体的直接作用。

参 考 文 献

1. Bernet J, Mullick J, Panse Y, et al. Kinetic analysis of the interactions between vaccinia virus complement control protein and human complement proteins C3b and C4b. J Virol, 2004, 78:9446~9457

2. Al-Mohanna F, Parhar R, Kotwal GJ. Vaccinia virus complement control protein is capable of protecting xenoendothelial cells from antibody binding and killing by human complement and cytotoxic cells. *Transplantation*, 2001, 71: 796 ~ 801
3. Ganesh VK, Smith SA, Kotwal GJ, et al. Structure of vaccinia complement protein in complex with heparin and potential implications for complement regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 8924 ~ 8929
4. Isaacs SN, Argyropoulos E, Sfyroera G, et al. Restoration of complement-enhanced neutralization of vaccinia virus virions by novel monoclonal antibodies raised against the vaccinia virus complement control protein. *J Virol*, 2003, 77: 8256 ~ 8262
5. Rosengard AM, Liu Y, Nie Z, et al. Variola virus immune evasion design: expression of a highly efficient inhibitor of human complement. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 8808 ~ 8813
6. van de Walle GR, Favoreel HW, Nauwynck HJ, et al. Antibody-induced internalization of viral glycoproteins and gE-gI Fc receptor activity protect pseudorabies virus-infected monocytes from efficient complement-mediated lysis. *J Gen Virol*, 2003, 84: 1 ~ 15
7. Law M, Hollinshead M, Lee HJ, et al. Yaba-like disease virus protein Y144R, a member of the complement control protein family, is present on enveloped virions that are associated with virus-induced actin tails. *J Gen Virol*, 2004, 85: 1279 ~ 1290
8. Bernet J, Mullick J, Singh AK, et al. Viral mimicry of the complement system. *J Biosci*, 2003, 28: 249 ~ 264
9. Calderwood MA, White RE, Whitehouse A. Development of herpesvirus-based episomally maintained gene delivery vectors. *Expert Opin Biol Ther*, 2004, 4: 493 ~ 505
10. Mullick J, Bernet J, Singh AK, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) open reading frame 4 protein (kaposica) is a functional homolog of complement control proteins. *J Virol*, 2003, 77: 3878 ~ 3881
11. Mullick J, Singh AK, Panse Y, et al. Identification of complement regulatory domains in vaccinia virus complement control protein. *J Virol*, 2005, 79: 5850 ~ 5856
12. Spiller OB, Blackburn DJ, Mark L, et al. Functional activity of the complement regulator encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J. Biol. Chem*, 2003, 278: 9283 ~ 9289
13. Mark L, Lee WH, Spiller OB, et al. The Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus complement control protein mimics human molecular mechanisms for inhibition of the complement system. *J Biol Chem*, 2004, 279: 45093 ~ 45101
14. Rux AH, Lou H, Lambris JD, et al. Kinetic analysis of glycoprotein C of herpes simplex virus types 1 and 2 binding to heparin, heparan sulfate, and complement component C3b. *Virology*, 2002, 294: 324 ~ 332
15. Lubinski J M, Jiang M, Hook L, et al. Herpes simplex virus type 1 evades the effects of antibody and complement in vivo. *J Virol*, 2002, 76: 9232 ~ 9241
16. Robert D, Mahon FX, Richard E, et al. A SIN lentiviral vector containing PIGA cDNA allows long-term phenotypic correction of CD34 + -derived cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Mol Ther*, 2003, 7: 304 ~ 316
17. Speth C, Stoiber H, Dierich MP. Complement in different stages of HIV infection and pathogenesis. *Int Arch Allergy Immunol*, 2003, 130: 247-257
18. Urquiza M, Lopez R, Patino H, et al. Identification of three gp350/220 regions involved in Epstein-Barr virus invasion of host cells. *J Biol Chem*, 2005, 280: 35598 ~ 35605
19. Devaux P, Christiansen D, Plumet S, et al. Cell surface activation of the alternative complement pathway by the fusion protein of measles virus. *J Gen Virol*, 2004, 85: 1665 ~ 1673

(收稿日期: 2006-01-13)

(上接第 102 页)

8. Monso E, Rosell A, Bonet G, et al. Risk factors for lower airway bacterial colonization in chronic bronchitis. *Eur Respir J*, 1999, 13: 338 ~ 342
9. Tom M, Wilkinson A, Iren S, et al. Airway Bacterial load and FEV₁ decline in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167: 1090 ~ 1095
10. 张杏怡, 周新, 何礼贤, 等. 经纤维支气管镜采样技术在肺部感染病原学中的诊断作用. *中国抗感染化疗杂志*, 2003, 3: 273 ~ 276

11. Stockley RA, O'Brien C, Pye A, et al. Relationship of sputum colour to nature and outpatient management of acute exacerbations of COPD. *Chest*, 2001, 117: 1638 ~ 1645
12. Noguera A, Battles S, Miralles C, et al. Enhanced neutrophil response in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 2001, 56: 432 ~ 437
13. Chung KF. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*, 2001, 18: 50 ~ 59

(收稿日期: 2006-05-08)