

• 综述 •

<4.: EJY E1GLHKS(U+c0(USQOQ(MJELY JFY JE

猪流行性腹泻病毒与宿主抗病毒天然免疫抑制

郭存财, 刘 炎, 黄耀伟^e

(浙江大学动物科学学院 杭州 1EJJHG)

摘要 猪流行性腹泻病毒(Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"##8&" @0#6? _B<b)能引起猪腹泻等肠道疾病,属于α属冠状病毒,它的爆发给很多国家养猪业造成了严重的经济损失。MJEJ年以来,_B<b感染在中国出现大规模爆发,一种突变型_B<b也于MJEI年在美国出现并迅速传播。病毒能够通过A\$%样受体通路(A2' I)和'.51.样受体通路('2')诱导.型干扰素的产生。但以往的研究表明,_B<b感染能抑制.型干扰素的合成。近年来有关_B<b调节宿主天然免疫应答的研究取得了很大进展。_B<b主要通过编码作为干扰素拮抗剂的病毒蛋白以及隐藏病毒自身病原相关分子模式(' '>_)等两种方式逃逸宿主天然免疫应答。目前已报道_B<b非结构蛋白E可通过降解!D_阻碍干扰素调节因子I(. '911)组装成增强子复合物;木瓜蛋白酶样蛋白酶可通过其去泛素化酶活性阻断天然免疫信号通路传递;!样蛋白酶可通过剪切;B>4发挥干扰素拮抗剂活性;核衣壳蛋白通过结合ADaE抑制.型干扰素产生。_B<b也可通过合成加帽酶隐藏其病原相关分子T?' ;'来避免激活天然免疫通路。_B<b抗病毒天然免疫机制阐明为研究_B<b感染免疫和致病机制提供了重要的理论依据,为研发抗_B<b新型疫苗和药物提供了基础。

关键词 猪流行性腹泻病毒;天然免疫;干扰素;拮抗剂

中图分类号 WH

Inhibitory Mechanism of Host Antiviral Innate Immunity by Porcine Epidemic Diarrhea Virus

5: 4 ! 6+1! "0 , 2.: C"+ , - : ' ; 5 C"\$1=&0°

(College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 1EJJHG)

Abstract _\$#U0+& &Z0T&O0U T0"##8&" @0#6? (_B<b) , " *&+6?1α U\$#\$+"@0#6? , U"+ U"6?& Z0* 0+,&?0+ "% T0?&"??&Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"##8&" (_B<) "+T 8"? #&?6%&T 0+ &+\$#O\$6? &U\$+\$O0U %\$?? 0+ O"+] U\$6+,#0&?(A8& %'##* & \$6,Q#&"c \$^ _B<b 0+ ! 80+" 8"? Q&&+ #&Z\$#,&T ?0+U& MJELJ "+T 0+ ,& : +0,&T) ,&? ?0+U& MJELI (' ; ' @0#6?&? 0+T6U& ,& Z#\$T6U,0\$+ \$^ ,JZ&1. 0+,&#?'&#\$+ (.9;) ,*8 ,&#%T0c& #&U&Z,\$# I (A2' I) 1 "+T '.51. T0c& #&U&Z,\$#? (' 2') TT&Z&+T&+ , Z" ,8\""]?(_#&0\$6? ? ,6T0&? 8"@& ?8\$ \ + ,8" , _B<b 0+^&U,0\$+ 0+80Q0,? ,& &?]+ ,& &? \$^ ,JZ&1. .9; (5&" , Z#\$*#&?? #&*"#T0+* ,& #&#&? \$^ _B<b 0+ 8\$? , 0+ + ,& 0006+0,] 8"? Q&&+ O" T& 0+ #&U&+ ,]&#?(_B<b &?U"Z&? 0+ + ,& 0006+& #&?Z\$+?& Q] , \ \$ O"0+ \"]? , \$+& 0? ,8" , _B<b &+U\$T&? 0+,&#?'&#\$+ "+ ,"*\$+0? ,? "+T ,& \$,8&# 0? ,8" , _B<b 80T&? 0,? Z" ,8\$*+&1"?\$U0" ,&T O\$%&U6%# Z" ,&#+?1 T?' ;' (' , Z#&?&+ , , _B<b 1&+U\$T&T +\$+T? ,#6U,6#" % Z#\$,&0+ E (+?ZE) , Z"Z"0+ T0c& Z#\$,&"?& , I! T0c& Z#\$,&"?& "+T +6U%&\$U"Z?0T Z#\$,&0+ 8"@& Q&&+ 0T&+ ,0'0&T "? 0+,&#?'&#\$+ "+ ,"*\$+0? ,?(A8& &+8"+U&\$?SO& "??&OQ%] \$^ . ' 91 "+T ! ' BD100+T0+* Z#\$,&0+ (! D_) U"+ Q& 0+ ,&##6Z ,&T Q] +?ZE @" T&*#"T0+* ! D_(A]Z&1 . 0+ ,&#?'&#\$+ Z" ,8\""] U"+ Q& +&* ,0@&] #&*6% ,&T Q] Z"Z"0+ T0c& Z#\$,&"?& ,*8 "U,0+* "? " @0#" % T&6Q0f60,0+?"&(. + ,& 0006+& ?0+ "%0+* Z" ,8\""] U"+ Q& "+ ,"*\$+0[&T Q] I! T0c& Z#\$,&"?& @" U%&"@0+*

收稿日期: MJEL 11 MF; 修回日期: MJEL 11 ML; 接受日期: MJEL 11 EN
国家自然科学基金(: \$(1EHVMHEG) 资助
^e 联系人 A&: JHVE TGGFGMJHE; B10"0%]86"+*R [S6(&T6(U+
' &U&0&T: >"#8 MF ,MJEL; ' &@0?&T: ' Z#0%ML ,MJEL; ' UU&Z,&T: >"] EN ,MJEL
)6ZZ\$#,&T Q] ; ".0\$+ "% ; ".6#" % U0&+U& 9\$6+T" ,0\$+ \$^ ! 80+" (; \$(1EHVMHEG)
^e ! \$##&?Z\$+T0+* "6,8\$# A&: JHVE TGGFGMJHE; B10"0%]86"+*R [S6(&T6(U+

; B>4 , "+T ,8& Z#T6U,0\$+ \$^ ,]Z&1. 0+,&#&#\$+ U"+ Q& 0+80Q0,&T Q] +6U%\$U"Z?T Z#\$,&0+ @0" Q0+T0+* ,8#&\$+0+&1Z#\$,&0+ c0+"?& E (ADaE) (_B<b 1&+U\$T&T #&Z?U"??& ?]+,8&?0[&? " U"Z?T,#6U,6#&,\$ 0,? T?' ; ' , \$ "@&# , "U,0@",0+* 0++",& 00O6+& Z",8\"]?(A8&?& #&?6%? Z#\$@T& " ,8&\$#&,0U"% Q"?? , \$ 0+@&?,0**",& ,8& 0+^&U,0\$+ , 00O6+0,] "+T Z",8\$*+&0U,] Q] _B<b , \80U8 O"] 8&?Z , \$ T&@&#Z +&\ @"UU0+&? "+T T#6*? " "0+?, _B<b(

Key words Z#\$U0+& &Z0T&O0U T0"##8&" @0#6? (_B<b); 0++",& 00O6+0,]; 0+,&#&#\$+; "+,"*\$+0?,

冠状病毒(! \$#\$+"@0#6? ,! \$b) 是具有囊膜的单股正链 ' ; ' 病毒 ,表面有棒状突起 ,含有 ' ; ' 病毒中最大的基因组 ' ; ' 。冠状病毒能够引起哺乳动物和鸟类的一系列疾病^[E]。根据基因组结构相似性及血清型不同 ,将目前已知的冠状病毒 ,包括最新发现的猪丁型冠状病毒 (Z#\$U0+& U#\$+"@0#6? , _<! \$b ,分离于美国猪)^[M] ,分为甲(α)、乙(β)、丙(γ)、丁(δ)N 个属;其中 α、β 属为哺乳类冠状病毒 ,包括猪传染性胃肠炎病毒 (,#"+"O0??0Q% *"? ,#\$&+,�,0? @0#6? ,A5Bb)、猪流行性腹泻病毒 (Z#\$U0+& &Z0T&O0U T0"##8&" @0#6? ,_B<b)、严重急性呼吸综合征冠状病毒 (?&@&#& "U6,& #&?Z0#" , \$#] ?]+T#\$O& U#\$+"@0#6? ,) ' ')! \$b)、中东呼吸综合征病毒 (>0TT% B"?, #&?Z0#" , \$#] ?]+T#\$O& U#\$+"@0#6? , >B')! \$b) 等; γ 属包括禽传染性支气管炎病毒 (0+^&U,0\$6? Q#&+U80,0? @0#6? ,Db) 等; δ 属有猪丁型冠状病毒(_<! \$b) 。

1 PEDV 概述及基因组结构

_B<b 属于 α 属冠状病毒 ,能引起猪流行性腹泻等肠道疾病 ,临床主要表现为严重腹泻和脱水。自 EFVG 年 _B<b 在欧洲首次爆发以来^[1] ,其疫情从未间断。并在 MJEJ 年后 ,相继在我国、韩国、菲律宾以及美国出现大规模爆发^[N1] ,给这些国家造成严重的经济损失。因此 ,对 _B<b 致病机制的研究以及新型疫苗的研制日渐迫切。本实验室从 MJEI 年开展 _B<b 的研究以来 ,已经对 _B<b 毒株在中国和美国的进化和分型进行了阐述^[L] ,随后在构建 _B<b 反向遗传学系统上取得初步的进展(待发表) 。现对 _B<b 逃逸天然免疫信号通路的机制进行综述 ,总结现有研究结果 ,为后续研究提供思路。

_B<b 基因组序列长度为 MG cQ Hg 端有帽结构 , Ig 端有 _\$%(') 尾。其基因组由 Hg 非编码区和 Ig 非编码区以及 L 个开放阅读框(\$Z&+ #&"T "#O&? , 4' 9?) 组成 ,编码 EV 个非结构蛋白(+?ZE d +?ZEL、4' 91) 和 N 个结构蛋白()、B、>、;) ,编码蛋白对应的基因组顺序为如 90*(E 所示^[V]。

_B<b 基因组编码的结构蛋白中) 蛋白是识别宿主细胞上的入胞受体 ,促进病毒与细胞膜融合的蛋白; > 蛋白可以和自身、) 蛋白和 ; 蛋白相互作用完成病毒粒子的组装; B 蛋白为膜蛋白; ; 蛋白是一种多功能蛋白 ,与病毒复制有关 ,并且在 ; 端和 ! 端都含有 ' ; ' 结合域。最新研究^[G] 表明 ,_B<b ; 蛋白有拮抗 . 型干扰素产生的作用。非结构蛋白中 ,+?ZE 具有干扰宿主基因合成的功能^[F]; +?Zl 是病毒编码的最长的蛋白质 ,含有 M 个木瓜酶样蛋白酶 _2_E 和 _2_M ,_2_M 具有去泛素化酶活性^[EJ]; +?ZH 编码 I! 样蛋白酶 ,是病毒成熟必需的蛋白酶 ,具有干扰素拮抗剂活性^[EE]; +?ZV d +?ZEJ 具有 ' ; ' 结合活性 ,+?ZEM 具有依赖 ' ; ' 的 ' ; ' 聚合酶活性 ,+?ZEI d +?ZEL 具有 ' ; ' 加工酶活性^[EM]。

2 RNA 病毒激活的 I 型干扰素应答信号通路

天然免疫应答是宿主抵抗病原体入侵的第一道防线 ,其中 .9; 1αkβ 是宿主抵抗病毒感染的关键因子。阐明宿主天然免疫应答激活产生 .9; 1αkβ 的过程对研究病毒如何拮抗宿主天然免疫应答有重要意义。

宿主的 . 型干扰素应答主要包括 I 个阶段: 病原相关分子模式 (Z",8\$*+1"??ZU0",&T O\$%U6%"# Z",&#+ _' >_) 被模式识别受体 (Z",&#+ #&U\$*+0,0\$+ #&U&Z,\$# _' ') 识别; . 型干扰素通过自分泌或旁分泌方式激活干扰素刺激基因(0+,&#&#\$+ T?,0O6%,&T *&+& ,)5) 表达; .)5? 表达一系列抗病毒蛋白 ,使宿主进入抗病毒状态^[E1]。在病毒复制过程产生的 T?' ; ' (T\$6Q%T?,#"0+T ' ; ') 是一种 _' >_ ,可以激活 _' ' 并诱导 .9; αkβ 的表达。宿主中主要负责识别病毒 T?' ; ' 的两种模式识别受体是 AS%样受体 (AS%T%c& #&U&Z,\$# ,A2') 和 ' .51. 样受体 (#&,0+\$0U "U0T10+T6U&T *&+& .T%c& #&U&Z,\$# ; 2') ,分别通过 A2' I KA' .9 (AS%10+,&#%6c0+ (.2) E1 #&??" ,+U& (A.') T\$O"0+1U\$+,"0+0+* "T"Z,\$# 0+T6U0+* .9; 1β) 和 ' .51.K><' H (O&%+\$O" T0"~&#&,0",0\$+ *&+& HK.) E(.9; 1β Z#\$O\$,&# ? ,0O6%,\$# E) 通路介导 .9; 1β 的表达(90*(M) 。

Fig. 1 PEDV genome organization

The diagram illustrates the organization of the PEDV genome. It consists of four main genes: NP, GP, M, and S. The S gene is divided into two segments, S1 and S2. The M gene is divided into two segments, M1 and M2. The GP gene is divided into two segments, GP1 and GP2. The NP gene is a single segment. The genome organization is shown as a linear sequence of these genes and their segments.

Fig. 2 TLR3/TRIF, RIG-I/MDA5/IPS-1 and Tyk2/JAK1 pathways

The diagram shows the signaling pathways for TLR3, RIG-I, and MDA5. TLR3, RIG-I, and MDA5 recognize T? and TRIF, leading to the activation of IRF3 and IRF7. The activated IRF3 and IRF7 then form a complex with IRF3 and IRF7, which translocates into the nucleus to initiate transcription. Additionally, the pathways lead to the activation of NF-?B and IRF3/IRF7 complex formation.

是在细胞质中识别 T? ; 后被激活的主要通路。和 >< H 识别 T? ; 后募集接头蛋白 () E , () E 能够直接与肿瘤坏死因子相关受体 L (A ; 9 #&U&Z, \$ # 1 " ? ? \$ U 0 " , & T ^ " U , \$ # L , A ' ' 9 L) 和 A ' ' 9 I 相互作用 , 然后激活下游信号分子 A ' ; a 结合激酶 E (A ' ; a 1 0 0 + T 0 + * c 0 + " ? & E , A D a E) 和 . k D 激酶 ε (. k D c 0 + " ? & , . a a ε) 抑制剂进

而磷酸化并激活 . 9 ; 调节因子 I (0 + , & # ^ # \$ + 1 # & * 6 % " , \$ #] ^ " U , \$ # I , . ' 9 1 I) 和 ; 9 1 k D (+ 6 U % & " # , # " + ? U # 0 Z , 0 \$ + ^ " U , \$ # c " Z Z " D) 。 激活后的 . ' 9 1 I 和 ; 9 1 k D 入核并结合到 . 9 ; 1 β 的启动子上 , 诱导 . 9 ; 1 β 的转录^[EN]。

A2' I KA' . 9 通路主要通过细胞内识别 T? ; ' 而被激活。T? ; ' 被 A2' I 识别后将激活信

号向下游传递 A2' I 下游的接头分子为 A' .9(含有诱导 .9; 1β 受体的 A' 区) ,激活的 A' .9 募集 A' ' 9L 和 A' ' 9I ,后续激活过程与 ' .51.K><' HK >' b) 通路中 ._)E 的下游通路相似。

泛素化和去泛素化过程是调节病毒诱导的 .9; 信号通路中的必要过程^[EH]。例如, ' .51. 受体的激活过程需要泛素化后才能诱导胞内的信号传递过程^[EL]。需指出的是,具有泛素化蛋白 BI 连接酶活性的 A' .>MH(,#0Z"#,0,& O\$,0^ MH) 对 ' .51. 的泛素化过程起关键的调节作用^[EV]。最新研究发现 ,>&PID 可作为 A2' I 的共受体 ,>&PID 也可识别病毒侵入细胞后释放出的 T?' ;' 。>&PID 和 A2' I 在核内体中结合 ,束缚 T?' ;' ,增加 A2' I 对 T?' ;' 的结合活性。此外 ,>&PID 还可促进 A2' I 的蛋白酶解过程 ,对 A2' I KA' .9 信号通路的激活比较关键^[EG]。

被激活表达的 .9; 1αKβ 通过自分泌或旁分泌的方式作用于分泌细胞和周边细胞。分泌到细胞外的 .9; 1αKβ 被细胞膜上的干扰素受体 .9; ' ' 识别 ,进而通过激活 A]cM(,]#\$?0+& c0+?"& M) K/' aE 通路 (90*(M) ,最终诱导一系列干扰素刺激因子(.)5?) 产生 ,这些 .)5? 能够直接或间接发挥抗病毒效应。

3 PEDV 通过编码干扰素拮抗蛋白拮抗 I 型干扰素产生

MJEH 年 , ! "\$ 等^[EF] 首次在猪小肠上皮细胞 (0+ ,&?,0+ "%&Z0,8&W"%U&%, .B!) 上证实 _B<b 通过抑制 ' .51. 激活的 ._)E 表达 ,进而抑制 .B! 中产生 .9; 1β。目前为止 ,对 _B<b 编码蛋白拮抗天然免疫应答的研究已取得长足进展。

已有的报道显示 ,_B<b 主要通过两种方式拮抗宿主天然免疫应答。一种是编码具有拮抗干扰素应答功能的病毒蛋白来阻断通路中分子信号的传递

(90*(I) ,另一种是通过隐藏病毒的 '_ >' 来避免对天然免疫信号通路的激活。

3.1 PEDV nsp1 通过依赖蛋白酶体的途径降解 CREB-binding protein(CBP) 从而抑制 I 型干扰素产生

78"* 等^[MJ] 从 _B<b 各基因编码蛋白中筛选了具有抑制干扰素应答功能的病毒蛋白质。通过双荧光素酶报告试验 ,鉴定出非结构蛋白 +?ZE、+?Z1、+?ZV、+?ZEN、+?ZEH 和 +?ZEL ,以及结构蛋白 B、> 和 ; 蛋白可抑制 _\$(:!) 对 .9; 1β 和 ' 9I 启动子控制的报告基因的激活作用 ,并且能够降低 _\$(:!) 激活表达的 .9; 1β 的 O' ;' 水平 ,表现出干扰素拮抗剂活性。在这些鉴定出的干扰素拮抗剂中 , +?ZE 表现出最强的抑制作用。报道显示 ,α! \$b 和 β! \$b 中已发现多种病毒的 +?ZE 具有拮抗干扰素应答的特性 (A"Q& E) 。因此 ,多选用 +?ZE 来研究 _B<b 对干扰素抑制的分子机制。_B<b 的 +?ZE 可分布在细胞质和核中 ,不影响 Z1.' 9I 的表达量和入核 ,表明 +?ZE 可能在细胞核内介导对 .9; 产生的抑制作用。.' 9I 入核后 ,二聚化的 .' 9I 结合 !D_ 形成诱导转录的增强子复合体。然而 ,通过免疫共沉淀试验发现 ,+?ZE 并不能与 .' 9I 和 !D_ 结合 ,但在 +?ZE 表达的细胞中 !D_ 的表达量降低 GJh。另外 ,用对 !D_ 降解有抑制作用的 >5EIM 处理细胞后 ,能中止 +?ZE 对 !D_ 的降解作用 ,表明 +?ZE 可能通过蛋白酶体依赖的途径降解 !D_ ,进而阻碍增强子复合体的形成 ,抑制 . 型干扰素转录。抑制剂 >5EIM 的使用是一个亮点 ,可以从侧面证明 +?ZE 诱导的蛋白酶解活性。但是 ,利用反向遗传学工具构建含有失活 +?ZE 的 _B<b 突变株去感染 -&2" 细胞 ,检测 _B<b 突变株能否缓解对 !D_ 的降解作用 ,会更科学和有说服力。

Table 1 References showing inhibition of innate immune response by coronavirus nsp1

; ?ZE	; 6OQ&# \$^ "O0+\$ "U0T?	>\$T& \$^ "U,0\$+	' &#&#+U&?
α! \$b			
B<b	EEJ	<&*#"T",0\$+ \$^ !D ,0+80Q0,0\$+ \$^ .)5? &PZ#&??0\$+	[MJ]
A5Bb	EEJ	.+80Q0,0\$+ \$^ 0+,#"U&%6%# Z#\$,&0+ ,#"+"?%,0\$+	[ME]
β! \$b			
>- b	MNH)6ZZ#&??0\$+ \$^ 0+ ,&#^&#\$+ ?0*+"%0+*	[MM]
)' ')! \$b	EGJ	_#\$O\$, & T&*"T",0\$+ \$^ 8\$?, O' ;' , 0+80Q0,0\$+ \$^ 8\$?, Z#\$,&0+ ?] ,+8&?0?	[MI ,MN] [MH]
D", !! \$b: ' OE	EGJ	.+80Q0,0\$+ \$^ ,]Z&1. 0+ ,&#^&#\$+ "+"T .)5? &PZ#&??0\$+	[ML]
D", !! \$b: EII	EFH		
D", !! \$b: -a: FE	EVH		

Fig. 3 Modes of action of PEDV interferon antagonists

最新研究^[F]表明, PEDV 的 NS3 蛋白通过与宿主核糖体亚单位结合, 阻止核糖体亚单位结合成起始复合物, 从而阻碍胞内 mRNA 的翻译; 另一方面, NS3 蛋白募集胞内的核酸内切酶并诱导其剪切宿主 mRNA 的 5' 帽, 被剪切后的 mRNA 中间体被胞内 3'-5' 介导的 mRNA 外切作用降解。通过整体抑制宿主的翻译功能, NS3 蛋白能够有效地抑制宿主的干扰素应答。多种冠状病毒的 NS3 对宿主细胞内的天然免疫信号分子具有降解作用。因此, 接

下来可探究其他冠状病毒 NS3 是否具有干扰素拮抗剂活性, 并且对比不同 NS3 作用机制的区别。

3.2 PEDV 木瓜蛋白酶样蛋白酶 (PLP) 通过去泛素化酶活性影响宿主天然免疫应答

NS3 编码的木瓜蛋白酶样蛋白酶 (NS3 的 PLP 域) 具有阻碍宿主天然免疫应答的作用, 可运用去泛素化酶 (ubiquitin-protein ligase, E3) 活性拮抗干扰素的产生。张百灵等^[EJ, MV]通过双荧光素酶报告实验发现, NS3 感染并不能诱导 BL 细胞产生干扰素, 反而能抑制干扰素诱导的干扰素产生。根据 NS3 的功能域可划分成 NS3-E 和 NS3-M 两

Fig. 4 Two strategies by which SARS-CoV nsp1 inhibits protein synthesis of the host

(' #,�#0T"&) 的猪繁殖与呼吸道综合征病毒 (_\$#U0+& #&Z#\$T6U,0e& "+T #&?Z0#", \$#] ?]+T#\$O& @#6? , _')b) 的 ! ! 2Z#\$ 都可通过剪切 ; B>4 来抑制天然免疫应答^[NE 11]; 小 ' ; ' 病毒科的科萨奇 DI 病

毒 (! \$P?"Uc0? DI , ! bDI) ! ! 2Z#\$ 通过剪切 >' b) 和 A' .9 ,肠道 VE 型病毒 (B+,&# \$@#6? VE , BbVE) ! ! 2Z#\$ 通过剪切 A' .9 和 A' aEKA' D 复合体来抑制 . 型干扰素表达^[NN 1ML]。

Table 3 References showing inhibition of innate immune response by Coronaviridae , Picornaviridae and PRRSV 3CLpro

! ! 2Z#\$	>\$T& \$^ "U,0\$+	' &^&#&+U&?
_B<b	! %@"* & \$^ ; B>4	[EE]
- ' b	! %@"* & \$^ ; B>4	[NE]
9><b	! %@"* & \$^ ; B>4	[NM]
! bDI	! %@"* & \$^ >' b) "+T A' .9	[NI]
BbVI	! %@"* & \$^ A' .9KA' aEKA' D U\$OZ%P	[NN ,NH]
_ ')b	! %@"* & \$^ ; B>4	[NL]

病毒逃逸宿主天然免疫应答的策略中,切割通路中信号受体分子是一种有效抑制抗病毒免疫应答的方法。_B<b ! ! 2Z#\$ 切割的 ; B>4 是天然免疫信号传递中的聚合点,这种关键分子的减少会极大地削弱宿主的抗病毒免疫应答。然而,不同实验室的结果有些矛盾。="+* 等^[EE]用)Bb 诱导干扰素筛选出 +?ZH,而 78"+* 等^[MJ]通过 _\$%(: !) 诱导 .9; β 并没有筛选出 +?ZH 是干扰素拮抗剂。本课题组通过)Bb 诱导 .9; β 时筛选出 +?ZH 可作为干扰素拮抗剂。因此,还需要更多的实验来明确 +?ZH 的作用。

此外, ; B>4 剪切位点的结构基础还未被阐明,蛋白酶活性在 _B<b +?ZH 介导的 ; B>4 剪切过程中具有重要作用,但是不能排除 +?ZH 中非活性位点对剪切过程的作用。_B<b ! ! 2Z#\$; B>4 是否会竞争性与 _B<b 自身蛋白争夺 _B<b ! ! 2Z#\$ 的作用靶点将成为下一步探究的重点。

3.4 PEDV 核衣壳蛋白(nucleocapsid ,N) 通过结合 TBK1 拮抗宿主天然免疫应答

冠状病毒核衣壳蛋白是病毒感染细胞中含量最丰富的病毒蛋白。<0+* 等^[G]发现,核衣壳蛋白能够降低仙台病毒诱导的 .9; β 及干扰素通路效应分子 .)5EH、.)5HN、.)5HL 的 O' ; ' 产量,能显著抑制 ADaE 及其上游分子 ' .51、><' H、_) E 和 A' ' 9I 诱导的 .9; β 产生,但不抑制 ' 9I 诱导的 .9; β 产生,表明核衣壳蛋白作用的靶信号分子可能是 ADaE,而且实验证实,核衣壳蛋白可以结合 ADaE 分子。ADaE 是 .9; 信号传递中的节点, A2' 和 ' 2' 通路都通过 ADaE 磷酸化 ' 9,进而引起 ' 9 入核诱导 . 型 .9; 的转录^[NV]。对通路中 ADaE 的抑制将有效地抑制通路中信号的传递。

最新研究^[NG]发现,埃博拉病毒 b_IH 蛋白结合

.aaε 和 ADaE 拮抗干扰素的产生, b_IH 蛋白也能够被 ADaE 或 .aaε 磷酸化。生物信息学分析 (8, : KK\\ \ (Z8\$?Z8\$?0,&(\$*K) 揭示 _B<b 核衣壳蛋白能够被 ADaE 磷酸化,因此 _B<b 核衣壳蛋白的功能可能受 ADaE 影响,进而影响 _B<b 致病性。这种病毒致病性能根据宿主发生调整的生物学意义很值得探究。

4 PEDV 编码的蛋白质通过隐藏自身的 dsRNA 避开天然免疫应答

冠状病毒运用的另一种逃逸宿主天然免疫应答方式是隐藏其 '_ >_ T?' ; ' ,避免激活 A2' I KA' .9 和 ' .51.K><' HK_) E 通路。真核生物宿主细胞会在翻译之前对自身 O' ; ' 进行组装,这些 ' ; ' 的 Hg端在转录时被酶修饰成带有 ; V1甲基化和 M' 41甲基化的帽结构 Hg端没有帽结构或者有未甲基化和未完全甲基化帽结构的 ' ; ' 会被 ' 2' 识别,而真核宿主细胞的 ' ; ' 通常不能被 ' 2' 识别。仿照宿主细胞 ' ; ' 加工过程,冠状病毒的复制酶复合体上含有 1 种加帽酶,分别是 +?ZEI 编码的 ' ; ' 三磷酸化酶(; A_ "?& 8&%U"?)&)、+?ZEN 编码的 ; V 甲基转移酶(; V1>A"?)&)和 +?ZEL 编码的 M' 4 甲基转移酶(M' 41>A"?)&)^[NF 1HE],这些酶能使病毒的 O' ; ' 带有和宿主细胞 O' ; ' 相似的 ; V1甲基化和 M' 41甲基化的帽结构,避免被 ' 2' 识别激活 ' 2' K_) E 通路。通过隐藏自身 ' ; ' 的策略,冠状病毒可以逃避 ' 2' 的识别^[HM],避免对天然免疫的激活。病毒隐藏自身 '_ >_ 是病毒拮抗宿主免疫应答一种有效方式,能够从起始部位避免激活宿主天然免疫应答。

5 问题与展望

冠状病毒科中许多病毒能够避开宿主天然免疫应答。) ') ! \$b 可编码至少 EE 种具有干扰素拮

抗剂的蛋白质, $_B<b$ 编码的蛋白质中也已经鉴定出 EE 种可作为干扰素拮抗剂。冠状病毒中存在多种干扰素拮抗剂的原因可能是由于冠状病毒的基因组是已知 ' ; ' 病毒中最大的, 进化出多种干扰素拮抗剂会增加其进化上的优势。

$_B<b$ 编码的干扰素拮抗剂蛋白 +?ZV、+?ZEN、+?ZEH、4' 9I、B 蛋白、> 蛋白具体作用机制尚未被报道。已初步了解功能的蛋白质如 +?ZE、 $_2_M$ 、+?ZH; 蛋白等, 仍需要考虑这些蛋白质是否还会通过其他方式拮抗干扰素效应。例如, ; 蛋白是 T?' ; ' 分子伴侣蛋白, 可以探究其是否可以结合宿主 T?' ; ' 来阻碍 . 型干扰素产生; +?ZH 是病毒水解蛋白酶, 其在病毒自身和宿主中作用的先后顺序也值得探究。与)' ')! \$b 的干扰素拮抗剂研究的深入程度相比 $_B<b$ 还需要更深入的探究。

参考文献 (References)

[E] - &%+ " /> , B#U" D , $_6$ D (! \$#\$+"@#6?&?1>&,8ST? "+T $_#$,SUS%2 [>] (; \ C\$#c: -6O"+ $_#$ &?? ,MJEH:EI 1EN

[M] 20 5 , ! 8&+ W , -"#OS+ a> , et al. 96%T%+* , 8 *+&+SO& ?&f6&+U& \$ Z\$#U0+& T&%"US\$+"@#6? ?#"+ :) . K.' KMJENKGVIN [/] (5&+SO& ' ++\$6+U , MJEN , 2(M) : &JJMVG 1EN

[I] ! 8"2& < , ! "# , \#0"8 ,)9(b0#6?T%& Z" #0U%? "??SU0" , &T \ 0,8 Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8S&" [/] (' &? b& ,)U0 , EFVG , 25(M) : MHM1MHL

[N])6+ ' W , ! "0' / , ! 8&+ CW , et al. 46,Q#&"c \$ Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" 0+ ?6Uc%0+ Z0%&, ? , ! 80+ " [/] (BO&#* . +&U , <0? , MJEM , 18(E) : ELE 1ELI

[H] ! 86+* - ! , ; *6] +& b5 , >\$S+ - / , et al. . ?\$% , 0\$+ \$ Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" @#6? T6#0+* \$6,Q#&"c? 0+)\$6,8 a\$#&" , MJEI 1 MJEN [/] (BO&#* . +&U , <0? , MJEH , 21(EM) : MMIG 1MMNJ

[L] -6"+* C = , <0Uc&#O"+ ' = , $_0i$]#\$ $_$, et al. 4#0"+ , &e\$%6,0\$+ , "+T *+& ,]Z0+* \$ O&#*+& , Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" @#6? ?#"+0+? 0+ , &8 : +0,&T) , &? [/] (>D0\$, MJEI , 4(H) : &JJVIV 1EI

[V] $_$ &#?O") , ; & , %+T / (! \$#\$+"@#6?&? Z\$?,1)' ') : 6ZT' , & \$+ &#Z%U" , 0\$+ "+T Z" , 8\$+&+&?0? [/] (; , ' &e >0U#S0\$% , MJJF , 7(L) : NIF 1NHJ

[G] <0+* 7 , 9"+* 2 , /0+* - , et al. $_$ \$#U0+& BZ0T&O0U <0"#8&" b0#6? ; 6U%SU"Z?0T $_#$,&0+ ' + , "+*\$+0[&? D& , ' . + , &#&#&+ $_$ \$T6U,0\$+ Q])&f6&? , �+* , 8& . + , &#&#&+ Q& , \&+& . ' 9I "+T AdAe [/] (/ b0#6\$% , MJEN , 88(EL) : GFIL 1GFNH

[F] ; "#]"+" a , ' "O#&[] . , 2Sc6*"O"*& a5 , et al. ! \$#\$+"@#6? +\$+? , #6U,6#"" Z\$, &0+ E : ! \$OO\$+ "+T T0?,0+U , ^6+U,0\$+? 0+ , &8 &#*6% , 0\$+ \$ 8\$? , "+T @#6" *+& &PZ&#?0\$+ [/] (b0#6? ' &? , MJEH , 202: GF 1EJJ

[EJ] 30+* C , ! 8&+ / , A6 / , et al. A8& Z"Z"0+ T%& Z\$, &"?& \$ Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" @#6? +&*" , 0e&] #&*6% , &? ,]Z& . 0+ , &#&#&+ Z" , 8\ "] Q "U,0+* ? " @#6" T&6Q0f60,0+?"& [/] (/ 5+& b0#6\$% , MJEI , 94($_V$) : EHHN 1EHLV

[EE] = "+* < , 9"+* 2 ,)80 C , et al. $_$ \$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" @#6? ! ! T%& Z\$, &"?& #&*6% , &? 0?, 0+ , &#&#&+ " , "+*\$+0?O Q] U%&"0+* ; B>4 [/] (/ b0#6\$% , MJEH , 90(N) : MJFJ 1MEJE

[EM] 9#0&O" + > , D"#U ' (>8U8+0?O? \$?&e&#& "U6, & #&Z0#", #] +?+T#\$O Z" , 8\$*+&+?0? "+T 0+"" , & 00O6+&SO\$T6% , 0\$+ [/] (>0U#S0\$% >\$% D0\$% ? &e , MJJG , 72(N) : LVM 1LGH

[EI] A" c&6U80 4 , ' c0#"") (. + , " , 00O6+ , 0] , @#6? 0+&+&U,0\$+ [/] (. 0O6+&\$% &e , MJJF , 227(E) : VHT 1GL

[EN] A8"+\$? < , >"+0" , 0? A(b0#6? +?T6U,0\$+ \$ 86O"+ . 9: Q& , " *+&

&PZ&#?0\$+ &#f60#&? , 8& "??&OQ% \$ " + &+8"+U&S?SO& [/] (! &% , EFFH , 83(V) : EJFE 1EJJ

[EH] . ?""U?\$+ > a , $_#$ &*8 - 2(: 00f60,0+ , 0\$+ , 600f60,0+ T%& OST0%#? , "+T T&6Q0f60,0+ , 0\$+ 0+ @#6" 0+&U,0\$+ [/] (! &% - \$? , >0U#S0\$% , MJJF , 5(L) : HHF 1HVJ

[EL] 7&+* = ,)6+ 2 , /0+* 3 , et al. ' U&+? , 0,6,0\$+ \$ ' , 8& ' . 51. Z" , 8\ "] #&e&"%2 " ?0+""0+* #S% \$ ^ 6+""+U&S#&T Z\$%] 600f60,0+ U8"0+? 0+ 0+"" , & 00O6+ , 0] [/] (! &% , MJEJ , 141(M) : 1EH 1I 1J

[EV] 5"Uc > : ,)80+ C! , /\$ \$! - , et al. A' .>MH ' : ; 5T0+* &# BI 600f60,0+ %0""?& 0? &??&+ , 0" "\$ \$ ' . 51.1O&T0" , &T " , 0e#6" "U,0e0,] [/] (; " , 6#& , MJJV , 446(VEIG) : FEL 1FMJ

[EG] C"+* C , = "+*) C , -6"+* 79 , et al. A8&' ; ' 100+T0+* Z\$, &0+ >&PI D 0? " US&U&Z , \$ \$ AS%T%& &U&Z , \$ \$ 1 0+ 0+"" , & " , 0e#6" "#&Z\$+?& [/] (! &% ' &? , MJEL , 26(1) : MGG 1I 1J

[EF] ! "\$ 2 , 5& 3 , 5" \$ C , et al. $_$ \$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" @#6? 0+80Q0? T?' : ' 0+T6U&T 0+ , &#&#&+ 1B Z\$#T6U,0\$+ 0+ Z\$#U0+& 0+ , &? , 0+ " %Z0,8&0% U&#? Q] Q%Uc" T& \$ ' , 8& ' . 51.1O&T0" , &T Z" , 8\ "] [/] (b0#6\$% / , MJEH , 12: EMV

[MJ] 78"+* W 7 ,)80 a , C\$ \$ < () 6ZZ#&??0\$+ \$ ' ,]Z& . 0+ , &#&#&+ Z\$#T6U,0\$+ Q] Z\$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" @#6? "+T T&#*T" , 0\$+ \$ ' ! ' BD 100+T0+* Z\$, &0+ Q] +?ZE [/] (b0#6\$%*) , MJEL , 489: MHM 1 MLG

[ME] -6"+* ! , 2Sc6*"O"*& a5 , ' \$[e0U? /> , et al. ' %Z8"US\$+"@#6? , #"+?O0?T0%& *""? , #&+ , �,0? @#6? +?ZE Z\$, &0+ ?6ZZ#&??&? Z\$, &0+ , #"+?% , 0\$+ 0+ O"OO"0+ U&#?2 "+T 0+ U&#%T#&& - &2" U&#% &P , # "U , ? Q6 , +\$, 0+ # "0Q0 , # , 0U6%SU , & %? , " , & [/] (/ b0#6\$% , MJEE , 85(E) : LIG 1LNI

[MM] 2&0 2 , C0+*) , D"\$S6+ 2 , et al. ' , &+6" , 0\$+ \$ ^ O\$6?& 8&Z" , 0,0? @#6? Q] T&8&,0\$+ \$ ^ , & 22' ap5Pa5 #*0\$+ \$ ^ ; ?ZE [/] ($_2$ \$) 4+& , MJEI , 8(N) : &LE 1ELI

[MI] a"O0" , +0 = , ; "#]"+" a , -6"+* ! , et al.)&e&#& "U6, & #&Z0#", #] ?] +T#\$O& US\$+"@#6? +?ZE Z\$, &0+ ?6ZZ#&??&? 8\$? , *+& &PZ&#?0\$+ Q] Z\$SO , 0+* 8\$? , O' ; ' T&#*T" , 0\$+ [/] ($_$ \$U : " , % "U" T) U0 :) ' , MJJL , 103(1N) : EMGG 1EMGFJ

[MN] a"O0" , +0 = , -6"+* ! , ; "#]"+" a , et al. ' ' , \$Z\$#*+&T ? , # , &] , \$?6ZZ#&?? 8\$? , Z\$, &0+ ?] + , 8&?0? Q]) ' ') US\$+"@#6? ; ?ZE Z\$, &0+ [/] (; " ,) , #6U , >\$% D0\$% , MJJF , 16(EE) : EEIN 1 EENJ

[MH] ; "#]"+" a , -6"+* ! , 2Sc6*"O"*& a , et al.)&e&#& "U6, & #&Z0#", #] ?] +T#\$O& US\$+"@#6? +?ZE ?6ZZ#&??&? 8\$? , *+& &PZ&#?0\$+ , 0+U&T0+* , 8" , \$,]Z& . 0+ , &#&#&+ , 0+ 0+&U, &T U&#%2 [/] (/ b0#6\$% , MJJG , 82(F) : NNVF 1NVF

[ML] A\$8] " C , ; "#]"+" a , a"O0" , +0 = , et al.) 6ZZ#&??0\$+ \$ ^ 8\$? , *+& &PZ&#?0\$+ Q] +?ZE Z\$, &0+? \$ ^ *#6Z M Q" , US\$+"@#6?&? [/] (/ b0#6\$% , MJJF , 83(EJ) : HMG 1HMG

[MV] 张百灵, 陈建飞, 邢雅玲, 等(猪流行性腹泻病毒($_B<b$) 与抗病毒天然免疫 [/] (中国生物化学与分子生物学报(78" +* D2 : ! 8&+ / 9 , 30+* C2 , et al. $_$ \$#U0+& &Z0T&O0U T0"#8&" @#6? ($_B<b$) "+T 8\$? , " , 0e#6" 0+"" , & 00O6+ , 0] [/] (! 80+ / D0\$U8O >\$% D0\$%) , MJEE , 27(L) : HEL 1HMI

[MG] = \$T] %' / ' , > "+\$%#0T0? . , b" + 1a" ? , &#&+ $_D$, et al. $_$ "Z"0+ T%& Z\$, &"?& E ^#SO , #"+?O0?T0%& *""? , #&+ , �,0? @#6? : ! #? , " #?6U,6#& "+T &+ [] O" , U "U,0e0,] , \$ "#T @#6" "+T U&#%6% "# ?6Q? , # , &? [/] (/ b0#6\$% , MJEJ , 84(EF) : EJJLI 1EJJVI

[MF] ! %&O&+ , [> ' , ! 8&+ 7 , D" + "U8 D) , et al. < &600f60,0+ , 0+* "+T 0+ , &#&#&+ " , "+*\$+0?O "U,0e0,0? \$ ^ US\$+"@#6? Z"Z"0+ T%& Z\$, &"?&? [/] (/ b0#6\$% , MJEJ , 84(F) : NLEF 1NLMF

[IJ] 20+T&# - ' , 2] , @+ b , W0 - , et al.)&#U,0e0,] 0+ .) 5EH "+T 600f60,0+ #&US\$+0,0\$+ Q] , 8&)]) US\$+"@#6? Z"Z"0+ T%& Z\$, &"?&? [/] (' #U8 D0\$U8O D0\$Z8?) , MJJV , 466(E) : GEN

[IE] <e#"#S) 5 , = "+* ; , ! 8&+ 7 , et al. ' &*6% , 0\$+ \$ ^ . ' 9I 1 T&Z&+T&+ , 0+"" , & 00O6+ , 0] Q] , & Z"Z"0+ T%& Z\$, &"?& T\$O"0+ \$ ^ , 8& ?&e&#& "U6, & #&Z0#", #] ?] +T#\$O& US\$+"@#6? [/] (/ D0\$% ! 8&O , MJJV , 282(NN) : IMM 1J 1MME

[IM] >0e%U8 ' > , a0%0"+c0 ' , D" & 1") + , ? C > , et al. > B') ! \$b Z"Z"0+ T%& Z\$, &"?& 8"? T& .) 5] %' , 0+ "+T T&6Q0f60,0+ , 0+* "U,0e0,0? [/] (b0#6\$%*) , MJEN , 450 1451: LN 1VJ

[II] C"+* 3 , ! 8&+ 3 , D0" + 5 , et al. $_#$, &\$% , 0U Z\$SU&??0+* , T&6Q0f60,0+?"& "+T 0+ , &#&#&+ " , "+*\$+0? , "U,0e0,0? \$ ^ O0TT%& &"?

#&?Z0#", \$#] ?]+T#\$O& U\$#\$+"@#6? Z"Z"0+T#c& Z#\$,&"?& [/(/ 5&+
b0#%\$, MJEN ,95(_ , 1): LEN1ML
[IN] =" +* 5 , ! 8&+ 5 , 78&+* < , *et al.* _2_M \$^ O\$6?& 8&Z" , 0,0? @#6?
' HF (>- b1' HF) , "#* &, ? ADaE , \$ +&*", 0@&%] #&*6% , & U&%6%#
,]Z& . 0+,&#^&#\$+ ?0*+"%0+* Z", 8\" [/(_2\$) 4+& , MJEE , 6
(M): &EVEFM
[IH] 78&+* < , ! 8&+ 5 , 56\$ D , *et al.* _2_M , " Z\$, &+, T&6Q0f60, 0+?"&