DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.02.039
第26卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 2
176 2004年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2004

综述

文章编号:1000-5404(2004)02-0176-03

整合素在病毒感染宿主细胞过程中的作用

Roles of integrins in the virus attachment and entry into host cells

张俊磊 综述,安 静 审校 (第三军医大学基础医学部微生物学教研室,重庆市 微生物工程实验室,重庆 400038)

病毒感染细胞的第一个关键步骤是病毒与被感染细胞表面病毒受体结合,在病毒受体的介导下,病毒颗粒通过细胞的内吞等过程进入细胞内复制。因此病毒受体是决定病毒宿主特异性和组织嗜性的主要因素之一。过去认为病毒受体是存在于细胞表面的、一种特异性识别病毒的分子。随着病毒研究的不断进展,对病毒受体的认识也更加深入。目前认为,病毒受体是指由宿主基因组所编码、控制和表达的一组能参与病毒结合、相互作用、便于病毒感染宿主细胞,位于细胞表面的蛋白质分子复合物。也就是说病毒受体是膜蛋白,它可以是结构和功能尚未为人所知的膜蛋白,也可以是具有细胞信号传导功能的表面受体,参与细胞分化、移行、细胞与细胞相互作用等复杂的生理过程。在众多的膜蛋白中,广泛分布在细胞表面的糖蛋白受体——整合素(integrin)颇引人注目,它不仅介导细胞与细胞之间、细胞与细胞外基质之间的相互作用,并作为信号受体,在细胞的生长、移行、增殖和分化等的生理过程中发挥重要作用。而且有资料表明:许多病毒如人疱疹病毒-8(HHV-8)[1],腺病毒[2],轮状病毒[3~7],口蹄疫病毒[8~13],汉坦病毒[14,15],人乳头瘤病毒-16型[16,17],艾博拉病毒[18],柯萨奇病毒A9[19],埃可病毒1、2、9、22型[19,20],人免疫缺陷病毒(HIV-1)等,也利用整合素分子作为病毒受体或共受体(corecepter)进入各自的宿主细胞,提示整合素在病毒与宿主细胞相互作用的过程中也发挥作用。

整合素在动植物界几乎每个组织细胞均有表达,分布于细胞表面,是结构、功能及其调节上都比较复杂的细胞粘附分子,其家族成员均是由α、β两个单跨膜糖蛋白亚单位构成的异二聚体。迄今已发现16种α亚单位,9种β亚单位,它们以不同的组合方式构成结构相似但具有配体结合特异性的20余种整合素分子。α和β亚单位的氨基末端球形区域相连,形成细胞外配体结合部位,可识别配体上特定的氨基酸序列,如$\alpha_v\beta_1$,$\alpha_v\beta_3$,$\alpha_v\beta_5$,$\alpha_v\beta_6$,$\alpha_v\beta_8$,$\alpha_5\beta_1$和$\alpha_8\beta_1$等可识别配体上的RGD序列(Arg-Gly-Asp sequence,精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列)。α亚单位含有结合二价钙离子的部位,β亚单位含有4个富含半光氨酸的重复序列,两个亚单位的胞浆区较短,均含有结合细胞骨架相关成分的部位,与肌动蛋白细胞骨架相连。整合素与病毒感染研究领域中,涉及的病毒和整合素的种类均很多,根据病毒衣壳蛋白上有无RGD序列可将病毒简单分成两大类。现分别以口蹄疫病毒和轮状病毒为例介绍一下这两类病毒利用整合素作为病毒受体的研究现状。

1 口蹄疫病毒感染与整合素

口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease, FMDV)属于小RNA病毒科口病毒属(aphthovirus),病毒衣壳蛋白VP1的βG和βH链形成一个长而可活动的环(G-H loop),环的远端包含一个高度保守的RGD序列。经过细胞培养多次传代的FMDV对硫酸乙酰肝素(heparitin sulfate, HS)有很高的亲和力,可以利用HS进入细胞;而野生型的FMDV则利用VP1 G-H loop上的RGD序列与整合素结合进入宿主细胞[9~11]。

早在1995年,Berinstein等[10]用透明连接蛋白(vitronectin)受体$\alpha_v\beta_3$的抗血清和$\alpha_v\beta_3$的单克隆抗体均能阻断FMDV对培养细胞的感染,认为$\alpha_v\beta_3$是该病毒的受体。但这种整合素在被认为是FMDV病毒感染初始复制场所的口咽上皮细胞中不表达,由于该细胞表达可与RGD序列结合的$\alpha_v\beta_6$,所以Jackson等[11]将人β6亚单位的全长基因转染只表达$\alpha_5\beta_1$和$\alpha_v\beta_5$的口咽的上皮细胞株——SW480细胞,其结果使原本对FMDV的C-S8c1和SAT-3株不敏感的SW480细胞变得敏感。实验进一步证明:抗$\alpha_v\beta_6$的单克隆抗体(10D5)可以阻断90%以上的FMDV对SW480-β_6的感染;反之,预先将FMDV与该细胞共孵育,也可以阻断99%以上的MAb(10D5)与细胞表面的$\alpha_v\beta_6$的结合;而针对其他两种整合素($\alpha_5\beta_1$和$\alpha_v\beta_5$)的MAb则对病毒感染没有影响。另外一段来自O型FMDV GH loop包含RGD序列的多肽也能阻断病毒感染SW480-β_6细胞。所以Jackson等认为在病毒感染的初期,整合素$\alpha_v\beta_6$通过与GH loop中的RGD序列结合,介导病毒进入口咽部的上皮细胞的可能性较大[11,13]。随后,他们又将α_v亚单位的cDNA转入CHOB2细胞(该细胞是CHO细胞的α_5缺失突变株),使之表达$\alpha_v\beta_1$,用与研究$\alpha_v\beta_6$相似的方法,证实$\alpha_v\beta_1$也参与FMDV的初始感染过程[9]。可见,整合素介导病毒进入细胞的过程较为复杂,正像Jackson等[8,11]指出的那样,在其他细胞或其他实验条件下$\alpha_5\beta_1$和$\alpha_v\beta_5$也可能作为FMDV的受体介导病毒感染的发生。

一般情况下,在FMDV的各种血清型中,G-H loop上RGD序列后的氨基酸不同,或者是精氨酸(arginine, R)、亮氨酸(leucine, L),或者是蛋氨酸(methionine, M)。不同的病毒株与整合素结合的能力不同[8,9,11],可能与病毒衣壳蛋白VP1的G-H

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170848)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30170848)
作者简介:张俊磊(1978-),女,山东省德州市人,硕士研究生,主要从事登革病毒致病机制方面的研究。电话(023)68752239
通信作者:安 静,电话:(023)68752239,E-mail:anjing60@yahoo.com.cn
收稿日期:2003-03-05;修回日期:2003-09-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

环上 RGD 序列后续的氨基酸种类有关。通过固相结合实验，发现 RGDR（Arg-Gly-Asp-Arg）多肽序列与 RGDL（Arg-Gly-Asp-Leu）序列均可作为 $\alpha_v\beta_3$ 的配体，相比之下 RGDR 序列结合力强；而对于 $\alpha_5\beta_1$，RGDL 序列比 RGDR 序列的结合力要大得多[8]。

虽然体外实验证明 FMDV 可以利用人整合素作为受体进入细胞，但这种病毒并不引起人类的疾病，于是 Neff 等[12] 对人和牛的 $\alpha_v\beta_3$ 整合素亚单位的序列进行了比较，发现人和牛的 α_v 亚单位 98.8% 的氨基酸序列同源，而 β_3 只有 93% 同源。他们又将两种 α_v 和两种 β_3 的 cDNA 分别转染 COS 细胞，并用 FMDV 感染转染后的细胞，发现在带有牛 β_3 亚单位的细胞中病毒的合成量大，而 α_v 亚单位对病毒的合成影响不大。认为牛的 $\alpha_v\beta_3$ 整合素作为 FMDV 的受体，介导感染的发生主要依赖 β_3 亚单位。

2　轮状病毒感染与整合素

轮状病毒属于呼肠孤病毒科，因电镜下病毒颗粒形似车轮而得名，是目前引起婴幼儿腹泻的主要病原体。轮状病毒的外壳由 VP4 和 VP7 两种蛋白组成，其中 VP4 是非糖基化蛋白，分子量 80×10^3，VP4 二聚体在外壳光滑的表面上构成钉状突起，可被胰蛋白酶裂解成 VP5*（60×10^3）和 VP8*（28×10^3），轮状病毒与细胞表面唾液酸（SA）结合的位点是 VP8* 上第 93～208 位氨基酸，因此认为 VP4 与病毒吸附、穿入细胞过程密切相关，裂解后 VP4 穿入细胞的能力更强。但是，只有少数动物轮状病毒结合宿主细胞引起感染需要借助 SA 残基的存在，而大部分侵犯人和动物的轮状病毒是 SA 非依赖性的[4]，说明与 SA 结合并非轮状病毒感染的必要条件，可能存在 SA 非依赖型轮状病毒受体[7]，该受体在 SA 依赖型和非依赖型轮状病毒侵入宿主细胞中均起作用。

近年来很多研究报道，$\alpha_4\beta_1$、$\alpha_v\beta_2$、$\alpha_2\beta_1$ 和 $\alpha_v\beta_3$ 整合素在轮状病毒吸附和穿入宿主细胞中起作用[3,5,6]。Ciarlet 等[3] 检测了 46 种不同组织来源的细胞系对轮状病毒的敏感性。CHO 和 RD 细胞系正常情况下不表达 $\alpha_2\beta_1$，对轮状病毒的敏感性分别是完全容纳细胞 MA104 细胞株的 1/1 000 和 1/100。当通过稳定转染将 $\alpha_2\beta_1$ 的基因导入 CHO 和 RD 细胞后，对病毒的敏感性分别上升了 2～10 倍。人的 α_2 亚单位可增强 SA 依赖性轮状病毒对 CHO 细胞感染作用，而 α_2 和 β_1 两个亚单位对 SA 非依赖型轮状病毒的感染均起增强作用。由于 CHO 细胞在转染后仍不能对轮状病毒完全容纳，而且一些细胞株如人 Hela 细胞、鼠 L929 和 3T3 细胞与 MA104 细胞表达 $\alpha_2\beta_1$ 的水平相同，但对轮状病毒的敏感性却仅是后者的 1/100，因此 $\alpha_2\beta_1$ 可能并不是轮状病毒的主要受体，或者说 $\alpha_2\beta_1$ 促进轮状病毒侵入细胞，但并非是病毒感染过程中惟一、必要的条件，可能尚需其它膜蛋白作为共受体的参与。

Guerrero 等[5] 将 $\alpha_v\beta_3$ 的配体透明连接蛋白（vitronectin）和 β3 的单克隆抗体分别与 MA104 细胞悬液孵育（在 4 ℃，1 h）后，再用 RRV，nar3 或 Wa 3 种轮状病毒分别感染细胞，发现不管是透明连接蛋白还是 β_3 的单克隆抗体，都对病毒的吸附没有影响，但可降低病毒感染率，分别是对照组的 40%～45% 和 60%～70%。而且如果先将细胞与病毒在 4 ℃孵育 1 h，再加入透明连接蛋白或 β_3 的单克隆抗体，也可以阻断病毒感染。但是若将病毒与细胞在 37 ℃（在该温度下病毒可以穿入细胞）孵育 1 h，再加入透明连接蛋白或 β_3Ab，则不能产生阻断效应。这一结果说明整合素 $\alpha_v\beta_3$ 在轮状病毒穿入宿主细胞的阶段发挥作用。

一般认为，$\alpha_v\beta_3$ 识别配体上的 RGD 三肽序列，然而无论是轮状病毒的 VP4 还是 VP7 蛋白，都不包含 RGD 序列。但 MA104 细胞先与 RGD 三肽孵育后接种病毒，可以阻断 20% 的轮状病毒感染；而先与 $\alpha_v\beta_3$ 的配体透明连接蛋白孵育，则可以阻断 70% 的感染[5]。同时应用抗 $\alpha_v\beta_3$ 和抗 $\alpha_2\beta_1$ 抗体发现，能协同阻断轮状病毒对 MA104 细胞的感染作用，而同时转染 $\alpha_v\beta_3$ 和 $\alpha_2\beta_1$ 的基因的 CHO 细胞，比只转染 $\alpha_2\beta_1$ 基因的 CHO 细胞对轮状病毒的敏感性更高[3]。这些结果表明：整合素 $\alpha_v\beta_3$ 可能通过 RGD 以外的位点与轮状病毒结合，参与病毒吸附、穿入靶细胞的过程。

目前，对整合素在病毒与宿主细胞相互作用中的角色做了许多研究，但对于有些问题尚难做出解释，尽管如此，这一研究领域将对病毒感染机制的阐明，病毒载体的构建，抗病毒疫苗[21] 及抗病毒药物的设计产生重大影响。例如，研究证明含有 RGD 序列的多肽可以抑制很多病毒的体外感染，有望制造多肽型抗病毒药物；而将 DCRGDCF 序列插入腺病毒衣壳蛋白，提高了腺病毒载体体外转化人血管平滑肌细胞的效率，为构建高效的病毒载体建立了基础。

关键词：整合素；病毒；病毒受体
中图法分类号：R392.13　　文献标识码：A

参考文献：

[1] Akula S M, Pramod N P, Wang F Z, *et al*. Integrin alpha3beta1 (CD 49c/29) is a cellular receptor for Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) entry into the target cells[J]. Cell, 2002, 108(3): 407—419.

[2] Chiu C Y, Mathias P, Nemerow G R, *et al*. Structure of adenovirus complexed with its internalization receptor, alphavbeta5 integrin[J]. J Virol, 1999, 73(8): 6759—6768.

[3] Ciarlet M, Crawford S E, Cheng E, *et al*. VLA-2 (alpha2beta1) integrin promotes rotavirus entry into cells but is not necessary for rotavirus attachment [J]. J Virol, 2002, 76(3): 1109—1123.

[4] Ciarlet M, Estes M K. Human and most animal rotavirus strains do not require the presence of sialic acid on the cell surface for efficient infectivity [J]. J Gen Virol, 1999, 80(Pt 4): 943—948.

[5] Guerrero C A, Mendez E, Zarate S, *et al*. Integrin alphavbeta3 mediates rotavirus cell entry[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(26): 14644—146499.

[6] Hewish M, Takada Y, Coulson B S. Integrins alpha4beta1 and alpha2beta1 can mediate SA11 rotavirus attachment and entry into cells[J]. J Virol, 2000, 74(1): 228—236.

[7] Zarate S, Espinosa R, Romero P, *et al*. The VP5 domain of VP4 can mediate attachment of rotaviruses to cells[J]. J Virol, 2000, 74: 593—599.

[8] Jackson T, Blakemore W, Newman J W, *et al*. Foot-and-mouth disease virus is a ligand for the high-affinity binding conformation of integrin alpha5beta1: influence of the leucine residue within the RGDL motif on selectivity of integrin binding[J]. J Gen Virol, 2000, 81(Pt 5): 1383—1391.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[9] Jackson T, Mould A P, Sheppard D *et al*. Integrin alphavbeta1 is a receptor for foot-and-mouth disease virus[J]. J Virol, 2002, 76(3): 935—941.
[10] Berinstein A, Roivainen M, Hovi T, *et al*. Antibodies to the vitronectin receptor (integrin alphavbeta3) inhibit binding and infection of foot-and-mouth disease virus to cultured cells[J]. J Virol, 1995, 69(4): 2664—2666.
[11] Jackson T, Sheppard D, Denyer M, *et al*. The epithelial integrin alphavbeta6 is a receptor for foot-and-mouth disease virus[J]. J Virol, 2000, 74(11): 4949—4956.
[12] Neff S, Mason P W, Baxt B. High-efficiency utilization of the bovine integrin alpha(v)beta(3) as a receptor for foot-and-mouth disease virus is dependent on the bovine beta3 subunit[J]. J Virol, 2000, 74(16): 7298—7306.
[13] Miller L C, Blakemore W, Sheppard D, *et al*. Role of the cytoplasmic domain of the beta-subunit of integrin alphavbeta6 in infection by foot-and—mouth disease virus[J]. J Virol, 2001, 75(9): 4158—4164.
[14] Mackow E R, Gavrilovskaya I N. Cellular receptors and hantavirus pathogenesis. Curr Top Microbioll Immunol[J]. 2001, 256: 91—115.
[15] Gavrilovskaya I N, Brown E J, Ginsberg M H, *et al*. Cellular entry of hantaviruses which cause hemorrhagic fever with renal syndrome is mediated by beta3 integrins[J]. J Virol, 1999, 73(5): 3951—3959.
[16] McMillan N A, Payne E, Frazer I H, *et al*. Expression of the alpha6 integrin confers papillomavirus binding upon receptor-negative B-cells[J]. Virology, 1999, 261(2): 271—279.
[17] Yoon C S, Kim K D, Park S N, *et al*. Alpha6 integrin is the main receptor of human papillomavirus type 16 VLP[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 283(3): 668—673.
[18] Takada A, Watanabe S, Ito H, *et al*. Down regulation of beta1 integrins by Ebola virus glycoprotein: implication for virus entry[J]. Virology, 2000, 278(1): 20—26.
[19] Triantafilou M, Wilson K M, Triantafilou K. Identification of Echovirus 1 and coxsackievirus A9 receptor molecules via a novel flow cytometric quantification method[J]. Cytometry, 2001, 43(4): 279—289.
[20] Triantafilou K, Triantafilou M, Takada Y, *et al*. Human parechovirus 1 utilizes integrins alphavbeta3 and alphavbeta1 as receptors[J]. J Virol, 2000, 74(13): 5856—5862.
[21] 吴玉章. 针对病毒感染的治疗性疫苗研究评述[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(10): 1131—1132.

(编辑 张大春)

(上接175页)

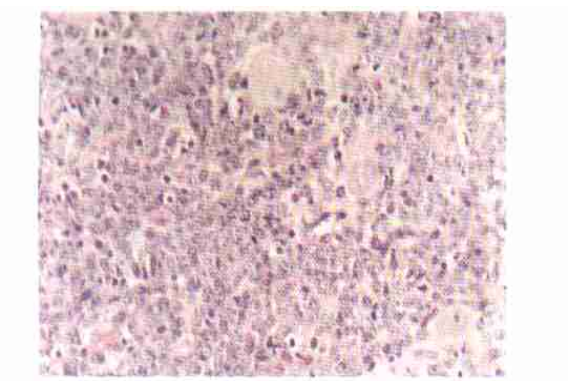


图2 瘤细胞中等大小,圆、卵圆形,胞质少,偶见核分裂像,其间散在神经节细胞 (HE×400)



图3 免疫组化瘤细胞**CD20**膜阳性 (S-P×400)

讨论

原发性肾上腺非霍奇金淋巴瘤(NHL)较少见[1~5],至2001年国内文献只有7例报道[4]。双侧只有4例[3~5],本例为第5例。肾上腺淋巴瘤多见于老年人,报道的病例均在50岁以上,双侧多见。临床上B超、CT及MRI都很难与肾上腺癌及转移性肿瘤鉴别,确诊靠穿刺或手术切除后病理检查。确定双侧肾上腺原发性NHL的依据是:①在诊断肾上腺原发性淋巴瘤时全身淋巴结及其它脏器均无淋巴瘤证据;②病人在半年内无其它部位淋巴瘤出现;③B超、CT及MRI检查同时发现双侧肾上腺肿块;④病理组织学及免疫组织化学确定为NHL。病理诊断时应与原始神经外胚层瘤(PNET)、神经母细胞瘤及恶性横纹肌样瘤等小细胞恶性肿瘤鉴别。

本例因肿瘤侵犯邻近神经节,瘤组织中有散在的神经节细胞,因此还应与节细胞神经母细胞瘤相鉴别,后者组织学图像常更为多样性,如瘤细胞可呈花环状或菊形团样排列等,瘤细胞染色深,胞质丝状,免疫组化或电镜检查有助于两者的区别。

关键词:肾上腺;肾上腺肿瘤;淋巴瘤
中图法分类号:R733.4 文献标识码:B

参考文献:

[1] 郑翠苹, 赵 彬, 张玉平, 等. 肾上腺淋巴瘤1例[J]. 中华血液杂志, 1996, (6): 303.
[2] 刘克华, 闵克廉, 朱有华, 等. 右肾上腺恶性淋巴瘤1例[J]. 中华肿瘤杂志, 1995, 18(3): 217.
[3] 李维佳, 周 挚, 李云涛. 双侧肾上腺淋巴瘤并皮质功能减退1例[J]. 临床血液学杂志, 2000, 13(5): 203.
[4] 刘 红, 丛振杰. 肾上腺淋巴瘤的CT诊断价值探讨[J]. 中国误诊学杂志, 2001, 15(5): 664.
[5] 林乐远, 朱梅刚, 丁彦青, 等. 双侧肾上腺非霍奇金淋巴瘤1例[J]. 诊断病理学杂志, 2002, 9(4): 255.

(编辑 薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net