

## 疱疹病毒与宿主细胞骨架间的相互作用

### Interactions between herpesvirus and host cytoskeleton

李一柯(LI Yi-ke) 综述 陈利玉(CHEN Li-yu) 审校

(中南大学湘雅医学院微生物学系, 湖南 长沙 410078)

(Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410078, China)

[关键词] 疱疹病毒; 宿主; 细胞骨架; 分子马达; 细胞器

[中图分类号] R752.1 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2010)02-0138-03

疱疹病毒依赖于宿主细胞骨架有效地进入细胞、复制以及从细胞中释放出来。为促使这一过程顺利完成, 在细胞质和细胞核中, 病毒蛋白必须与宿主细胞分子马达相互作用, 以便使病毒在感染细胞中正确定位。本文就疱疹病毒如何利用宿主细胞骨架、相关的分子马达和重塑蛋白将复杂的病毒结构高效地转入或转出细胞进行简要综述。

细胞的基本结构常常被比作高度有组织的城市。细胞器就像分子工厂, 生产出蛋白、脂类、核酸和能量(ATP)。而这些遍及整个细胞的“产品”如何进行转运, 对于细胞的生存、繁殖能力和功能都非常关键。从宿主细胞骨架和细胞器的密度可以发现, 宿主细胞骨架的密度远远高于细胞器的密度, 也远超过细胞内大分子化合物的密度(蛋白质在细胞质中的密度大约为 300 mg/mL<sup>[1]</sup>), 这种高密度的细胞骨架可以有效阻止细胞内大分子化合物随意扩散, 维持细胞内物质转运的秩序。细胞骨架是一个高度动态、适应性很强的系统, 这不仅为细胞提供了机械强度, 也能为细胞内大分子物质提供定位, 为囊泡和其他物质的转运提供长距离运输<sup>[2]</sup>。这种复杂程序的维持和控制由 3 种“基本的”丝蛋白系统来维持: 肌动蛋白微丝、微管蛋白和中间丝蛋白(为细胞极化时的物质运输提供支架<sup>[3]</sup>)。分子马达(又名分子发动机, 是分布于细胞内部或细胞表面的一类蛋白质, 它们的构象会随着与 ATP 和 ADP 的交替结合而改变, ATP 水解的能量转化为机械能, 引起马达形变, 或者是它和与其结合的分子产生移动, 就是说, 分子马达本质上是一类 ATP 酶)可以通过水解

ATP 促进多种物质运输, 而肌动蛋白微丝和微管蛋白则为其提供运输通道。这种活跃的运输机制对于有效地转运分子量大于 500 kD 的蛋白分子非常关键<sup>[4]</sup>。

疱疹病毒科包括  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  亚科, 是双链 DNA 病毒中一个庞大而多样化的家族。一般对于疱疹病毒  $\alpha$  亚科的研究主要集中于人类病原体单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)、水痘带状疱疹病毒(varicella zoster virus, VZV), 动物病原体伪狂犬病病毒(pseudorabies virus, PRV)、牛疱疹病毒(bovine herpesvirus, BHV) 和 马 立 克 氏 病 病 毒(Marek's disease virus, MDV); 对  $\beta$  病毒亚科的研究主要包括人疱疹病毒 HHV、人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV) 和 鼠 巨 细 胞 病 毒(murine cytomegalovirus, MCMV); 对  $\gamma$  病毒亚科的研究主要包括 EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV) 和 卡 波 济 肉 瘤 相 关 疱 疹 病 毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)。

尽管这 3 个亚科的病毒有着不同的细胞嗜性, 但它们都有一个关键的生存策略: 在感染的宿主细胞中, 疱疹病毒常常在细胞核内复制和包装病毒 DNA<sup>[5]</sup>。因此, 如何转运入和转运出细胞核, 对于疱疹病毒的成功增殖和传播至未受感染的细胞或宿主, 是一个至关重要的步骤。病毒粒子必须附在细胞的表面, 然后通过细胞质到达核孔复合体, 在核孔复合体将病毒 DNA 释放入细胞核, 而期待衣壳的有效扩散几乎是不可能的。有人曾经计算过, 在细胞质, 一个 HSV 衣壳需要将近 200 年的时间才能

[收稿日期] 2009-06-02

[作者简介] 李一柯(1984-), 女(汉族), 湖南省长沙市人, 硕士研究生, 主要从事分子病毒学研究。

[通讯作者] 陈利玉 E-mail: chenliyuzi@yahoo.com.cn

扩散  $1\text{ cm}^{[5]}$ 。当病毒基因组复制并包装成核衣壳后,这种未成熟的病毒颗粒扩散出细胞核,然后被高效地转运到高尔基外侧网络(trans-golgi network, TGN),后者为病毒提供次级包装的部位<sup>[6]</sup>。随后病毒颗粒即可出胞并从细胞表面释放(或像  $\alpha$  疱疹病毒亚科,被分选到轴突进行长距离运输和释放)。

## 1 疱疹病毒进入宿主细胞导致细胞骨架重塑

疱疹病毒感染能对宿主细胞骨架产生直接影响,这种影响起始于某些病毒糖蛋白与未感染细胞表面的同源受体相结合。疱疹病毒的包膜与宿主细胞膜融合需要至少 3 种病毒糖蛋白的协调作用:gB 和 gH/gL(核心的融合机制)<sup>[5]</sup>。除了 VZV 和 MDV,其他  $\alpha$  疱疹病毒亚科成员在进入细胞时也需要病毒 gD 包膜蛋白<sup>[7]</sup>。gD 蛋白是已知的能与一些宿主受体如连接素(nectins)和细胞黏附分子(cell adhesion molecules)相结合的包膜糖蛋白;细胞黏附分子能诱导成纤维细胞和上皮细胞通过黏附而形成连接,亦可在神经元诱导形成突触连接<sup>[8]</sup>;而细胞连接素可通过激活肌动蛋白重塑蛋白(如 Ras 和 Rho GTP 酶)调节肌动蛋白细胞骨架的重塑<sup>[5]</sup>。

在 PRV 进入猪三叉神经节神经元细胞时, gD 蛋白与连接素-1 的结合通过一种以肌动蛋白为基础的重塑过程<sup>[5]</sup>,能诱导形成膨体(突触结),若用 secramin A(一种 Cdc42 Rho GTP 酶抑制剂)处理神经元细胞,此作用则不会出现<sup>[9]</sup>。早期的疱疹病毒感染中,在神经元细胞内发生的此种肌动蛋白重塑可能是为突触结中病毒的释放作准备(突触结是轴突中已知的病毒释放通道)<sup>[5,9]</sup>。

KSHV 中的 gB 糖蛋白利用  $\alpha 3\beta 1$  整合素作为病毒进入细胞的受体之一。gB 糖蛋白与其受体结合导致细胞信号级联反应的激活以及宿主细胞骨架的明显重塑<sup>[5,10]</sup>。此外,肌动蛋白的作用也出现在 HSV-1 的“吞噬样(phagocytosis-like)”进入通路中<sup>[11]</sup>。进入马-达二氏犬肾细胞的 HSV-1 能触发 Cdc42 或 Rac1 的信号,并表达出 Cdc42 或 Rac1 突变体,使 HSV-1 的感染力下降<sup>[12]</sup>。

综上所述,在疱疹病毒生命周期的早期(如吸附在细胞表面),能触发宿主细胞骨架重塑,以促进病毒高效地进入宿主细胞。经过穿越细胞皮层,疱疹病毒从肌动蛋白介导的转运过渡到以微管蛋白为基础的转运,直至到达宿主细胞核。

## 2 在疱疹病毒感染中病毒蛋白与宿主分子马达的相互作用

由分子马达介导的物质转运(如细胞器、病毒、囊泡等),包括多种转运的调节等,都是为了确保被转运物质在细胞中的合理定位。如物质在进出细胞时的运输涉及运输通道在微管蛋白和肌动蛋白纤维之间的转换<sup>[13]</sup>。一些物质在与驱动蛋白和动力蛋白同时结合后,可以呈现出双向以及跳跃(不是平滑的逐级过渡)的转运<sup>[5]</sup>。由于分子马达可通过衣壳蛋白,或分子骨架,或跨膜蛋白,或 GTP 酶与被转运物质相结合<sup>[14]</sup>,因此,不同物质与分子马达结合的机制差别亦很大。

关于在不同的细胞中  $\alpha$  疱疹病毒亚科蛋白与驱动蛋白和动力蛋白的相互作用的研究也有报道,如鼠神经元细胞、Hep2 细胞、长耳短尾猎犬肾细胞(MDCK)、非洲绿猴肾细胞(COS-1)以及 Vero 细胞等<sup>[5,15-17]</sup>。考虑到细胞中物质运输的动态性质,如果这些相互作用发生的时间非常短暂,或具有细胞特异性,则不容易被实验结果所证明。此外,病毒蛋白也有可能通过辅助蛋白与动力蛋白间接相互作用。如果这样的设想成立,用动力蛋白作“诱饵蛋白”来筛选就可能不能“钓取”出与其相互作用的病毒蛋白。这个问题突出了疱疹病毒研究工作中的难题——如何确定与病毒结构蛋白相互作用的宿主动力蛋白,以及研究其相互作用的机制。

## 3 微管蛋白、驱动蛋白与病毒的释放

在释放入细胞质前,成熟的核衣壳在核膜上经历套上核膜和去核膜等过程<sup>[5,18]</sup>。在细胞质中,病毒衣壳获得了第二级/成熟的包膜,并移动到细胞周边,以从感染的细胞中释放出来。细胞和病毒物质通过沿微管蛋白顺式转运到细胞膜附近,这种转动作用由多种分子马达驱动蛋白介导<sup>[14,19]</sup>。疱疹病毒衣壳通过在高尔基外侧网络上形成囊泡获得成熟的包膜,这个过程依赖于完整的微管蛋白系统<sup>[5,20]</sup>。Lee 等人在感染的上皮细胞中分离出细胞质中的细胞器,在体外重建了含有 HSV 囊泡的顺式转运<sup>[21]</sup>。这些囊泡富含高尔基体的标志 TGN46,当带有包膜的 HSV 衣壳进入到细胞质后,这些囊泡是病毒的主要目的地<sup>[22]</sup>。根据延时视频显微分析,在体外观察到有多种标记 GFP 的含 HSV 的囊泡沿着标记罗丹明的微管蛋白运输,与在活细胞中观察到的

HSV 沿微管蛋白的顺式转运相一致<sup>[21]</sup>。

在轴突中的  $\alpha$  亚科疱疹病毒蛋白的顺式转运是一种依赖于微管蛋白的过程,而这个过程能被有丝分裂阻滞剂阻断<sup>[23]</sup>。在轴突的感觉神经元细胞中,PRV 的衣壳通过一种轴突的驱动蛋白快速运输,这个过程依赖于微管马达蛋白<sup>[5]</sup>。尽管有一些蛋白被报道与驱动蛋白结合,但是究竟何种病毒蛋白与驱动蛋白结合调节这一过程完全不清楚。

综上所述,疱疹病毒依赖于宿主细胞骨架有效地进入细胞、复制并从细胞中释放出来。为促使这一过程顺利完成,在细胞质和细胞核中,病毒蛋白必须与宿主分子马达相互作用,以便使病毒在感染细胞中正确定位。因此,关于疱疹病毒未来研究的挑战,在于如何设计合适的研究方案以确定这些运输复合体在病毒生命周期各个阶段的组成以及功能。

#### [参 考 文 献]

[1] Lanni F, Waggoner A S, Taylor D L. Structural organization of interphase 3T3 fibroblasts studied by total internal reflection fluorescence microscopy [J]. *Cell Biol*, 1985, 100(4): 1091 - 1092.

[2] Browne S S. Cooperation between microtubule-and actin-based motor proteins [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1999, 15:63 - 80.

[3] Oriolo A S, Wald F A, Ramsauer V P, *et al.* Intermediate filaments: a role in epithelial polarity [J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(10):212 - 224.

[4] Lukacs G L, Haggie P, Seksek O, *et al.* Size-dependent DNA mobility in cytoplasm and nucleus [J]. *Biol Chem*, 2000, 275(3):1652 - 1659.

[5] Lyman M G, Enquist L W. Herpesvirus interactions with the host cytoskeleton [J]. *Virol*, 2009, 83(5): 2058 - 2066.

[6] Martinez-Moreno M, Navarro-Lerida I, Roncal F, *et al.* Recognition of novel viral sequences that associate with the dynein light chain LC8 identified through a pepscan technique [J]. *FEBS Lett*, 2003, 544(1-3):262 - 267.

[7] Cole N L, Grose C. Membrane fusion mediated by herpesvirus glycoproteins: the paradigm of varicella-zoster virus [J]. *Rev Med Virol*, 2003, 13(4):207 - 222.

[8] Nakanishi H, Takai Y. Roles of nectins in cell adhesion, migration and polarization [J]. *Biol Chem*, 2004, 385(10):885 - 892.

[9] De Regge N, Nauwynck H J, Geenen K, *et al.* Alpha-herpesvirus glycoprotein D interaction with sensory neurons triggers formation of varicosities that serve as virus exit sites [J]. *Cell Biol*, 2006, 174(2):267 - 275.

[10] Naranatt P P, Akula S M, Zien C A, *et al.* Kaposi's sarcoma-

associated herpesvirus induces the phosphatidylinositol 3-kinase-PKC-zeta-MEK-ERK signaling pathway in target cells early during infection: implications for infectivity [J]. *Virol*, 2003, 77(2):1524 - 1539.

[11] Clement C, Tiwari V, Scanlan P M, *et al.* A novel role for phagocytosis-like uptake in herpes simplex virus entry [J]. *Cell Biol*, 2006, 174(7):1009 - 1021.

[12] Hoppe S, Schelhaas M, Jaeger V, *et al.* Early herpes simplex virus type 1 infection is dependent on regulated Rac1/Cdc42 signalling in epithelial MDCKII cells [J]. *Gen Virol*, 2006, 87(12):3483 - 3494.

[13] Desai P, Deluca N A, Person S. Herpes simplex virus type 1 VP26 is not essential for replication in cell culture but influences production of infection virus in the nervous system of infected mice [J]. *Virology*, 1998, 247(1):115 - 124.

[14] Klopfenstein D R, Vale R D, Rogers S L. Motor protein receptors: moonlighting on other jobs [J]. *Cell*, 2000, 103(4): 537 - 540.

[15] Douglas M W, Diefenbach R J, Homa F L, *et al.* Herpes simplex virus type 1 capsid protein VP26 interacts with dynein light chains RP3 and Tctex1 and plays a role in retrograde cellular transport [J]. *Biol Chem*, 2004, 279(27):2852 - 28530.

[16] Benboudjema L, Mulvey M, Gao Y, *et al.* Association of the herpes simplex virus type 1 Us11 gene product with the cellular kinesin light-chain-related protein PAT1 results in the redistribution of both polypeptides [J]. *Virol*, 2003, 77(17): 9192 - 9203.

[17] Koshizuka T, Kawaguchi Y, Nishiyama Y. Herpes simplex virus type 2 membrane protein UL56 associates with the kinesin motor protein KIF1A [J]. *Gen Virol*, 2005, 86(3):527 - 533.

[18] Mettenleiter T C. Herpesvirus assembly and egress [J]. *Virol*, 2002, 76(4):1537 - 1547.

[19] Caviston J P, Holzbaur E L. Microtubule motors at the intersection of trafficking and transport [J]. *Trends Cell Biol*, 2006, 16(10):530 - 537.

[20] Mettenleiter T C, Klupp B G, Granzow H. Herpesvirus assembly: a tale of two membranes [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2006, 9(4):423 - 429.

[21] Lee G E, Murray J W, Wolkoff A W, *et al.* Reconstitution of herpes simplex virus microtubule-dependent trafficking in vitro [J]. *Virol*, 2006, 80(9):4264 - 4275.

[22] Harley C A, Dasgupta A, Wilson D W. Characterization of herpes simplex virus-containing organelles by subcellular fractionation: role for organelle acidification in assembly of infectious particles [J]. *Virol*, 2001, 75(3):1236 - 1251.

[23] Miranda-Saksena M, Armati P, Boadle R A, *et al.* Anterograde transport of herpes simplex virus type 1 in cultured, dissociated human and rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Virol*, 2000, 74(4):1827 - 1839.