

# 病毒感染与病毒受体

李明远

(华西医科大学微生物学教研室, 成都)

## Virus Infections and Virus Receptors

Li Ming-yuan

(Department of Microbiology, West China University of Medical Sciences, Chengdu)

**关键词:** 病毒感染; 病毒受体; 病毒多肽; 病毒吸附部位; 病毒吸附蛋白

**Key Words:** Virus infection; Virus receptor; Virion polypeptide; Virion attachment site; Virion attachment protein

### 一、引言

受体这一概念最早是由著名化疗学家 Ehrlich 在 1909 年提出的。他认为受体是一些特殊的化学基团, 能与某些药物发生结合, 并初步提出了“锁与钥匙”(Key and Lock)学说。继后, 许多学者深入进行了这方面的研究, 均认为受体是一些特殊结构, 能与环境中相对应的物质(称配体)发生特异结合并产生一定生物效应。受体有膜上和膜内之分, 它与配体的结合如同底物和酶, 抗原和抗体的结合一样, 具有高度特异性, 高度亲和力和可逆性及饱和性<sup>[1-2]</sup>。七十年代以来, 由于同位素、荧光素标记及亚细胞成分的分离纯化等新技术的应用, 使受体研究有了重大突破, 不仅对受体可进行定位研究, 还可进行定量分析, 有的已深入到分子水平<sup>[3]</sup>。随着受体研究的深入, 新的受体不断被发现, 其应用也不断扩大。如通过激素受体的检测, 对阐明某些肿瘤的病因, 预测肿瘤的预后, 为治疗的选择提供了可靠依据。又如通过抗受体抗体的检测, 对突眼性甲亢(Grave's 病), 胰岛素抗性糖尿病, 重症肌无力等自身免疫性疾病的发病机理有了新的认识<sup>[4-6]</sup>。在药物受体的研究中, 对药物作用机制的阐明, 发展新药和指导临床用药, 均具有重要意义。受体的研究还应用到病毒感染及其发病机理的研究, 其中研究比较深入的有小核糖核酸病毒, 粘病毒和逆转录病毒的受体<sup>[7-9]</sup>。Mekusick 还对这些病毒受体的染色体定位作了研究, 发现 B 组 3 型柯萨奇病毒(CVB<sub>3</sub>)的受体定位在人的第 19 号染色体上, EB 病毒的受体定位在人的第 14 号染色体上, 脊灰病毒的受体定位在人的第 19 号染色体的长臂上<sup>[10]</sup>。尽管受体的研究已有八十余年历史, 但对受体的组成, 结

本文由王道若先生审阅特表感谢

构和功能,受体和配体反应的一些中间环节仍然知道甚少。因而,对受体的研究仍是一个十分重要的项目。本文将主要就病毒感染与其受体作一综述。

## 二、病毒受体与病毒嗜性

病毒性感染的某些现象,早已为人们所熟知。如人类乙型肝炎病毒(HBV)只对人 和黑猩猩具有感染性;脊灰病毒主要破坏人和灵长类动物的脊髓前角运动神经细胞; A 组柯萨奇病毒主要损伤新生小鼠的骨骼肌等。为什么会这样呢?病毒受体的研究给了这个问题很好的回答。众所周知,病毒是一类非细胞结构的微生物,需寄生在活细胞内。其生活周期的第一步就是吸附到宿主细胞特异的受体上。其识别机制大致可分三类,即 1,自身-自身; 2,锁-钥匙; 3,连接子介导<sup>[2]</sup>(参见图 1)。受体的特异性主要表现在

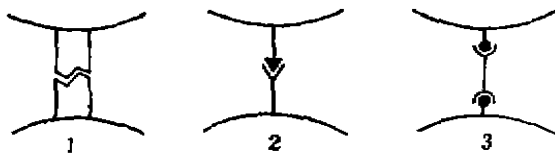


图 1 识别的三种类型

1. 自身-自身 2. 锁-钥匙 3. 连接子介导

Fig 1. Three types of recognition

1. self-self 2. lock-key 3. linker

种系特异性,组织特异性,病毒特异性,致病作用特异性四个方面<sup>[11]</sup>。而在许多情况下受体的特异性就决定了病毒的宿主范围和病毒嗜性<sup>[7-8]</sup>。如前所述的 HBV, 目前对其有限的宿主范围的解释是基于 Imai 等 1979 年发现 HBsAg 的前 S<sub>2</sub> 部位上的人聚合白蛋白(PHSA)受体<sup>[12]</sup>, Trevisa 等 1982 年证实人体肝细胞上也有

PHSA 受体等事实<sup>[13]</sup>,认为 PHSA 起了连接子的作用,从而介导 HBV 对肝细胞的亲嗜性<sup>[2]</sup>。又如 McCarell 等通过对脊灰病毒受体的深入研究,发现该受体只是人类和灵长类动物才具有<sup>[14]</sup>,更准确地说它是分布在灵长类动物的中枢神经系统和小肠上皮细胞,而非灵长类动物是缺乏该受体的。由此可见,受体的存在与否,常常决定了病毒的宿主范围,组织嗜性,并影响其致病性<sup>[9]</sup>。

还值得一提的是有些细胞虽然有病毒受体,但对该病毒仍然是不易感的。Markwell 等对 NCTC 2071 细胞株与仙台病毒感染的关系作了深入研究<sup>[15]</sup>,认为受体的空间位置是决定因素。人们早已经知道,仙台病毒的受体是神经节苷酯。在自然情况下,NCTC 2071 细胞株不与仙台病毒发生凝集,也不被该病毒感染。但经薄层层析和霍乱毒素结合实验证实,该细胞株是富含神经节苷酯的。为什么具有神经节苷酯的 NCTC 2071 细胞株对仙台病毒不易感呢?作者认为可能是受体表达部位不合适。因为受体在细胞表面的位置也是病毒吸附的关键所在<sup>[16]</sup>。细胞上存在着某一病毒的受体是否一定会造成该细胞的感染还决定于其它一些因素。如人红细胞和 C<sub>6</sub> 神经胶质瘤细胞株均含有脑心肌炎病毒(EMC)的受体,但该病毒在这两类细胞中均不能增殖,这是由于细胞缺乏翻译该病毒信息的能力<sup>[17]</sup>。

### 三、作为配体的病毒结构

受体的研究总是从配体的研究开始的。乙酰胆碱受体研究进展快,是因为有了很好的配体— $\alpha$ -银环蛇毒素。胰岛素受体结构之所以被研究清楚,是因为人、猪、牛的胰岛素结构相类似,从而保证了配体的充足来源。药物受体研究较多,是因为药物结构相对简单,其构象也易于了解。病毒受体的研究也是始于对病毒结构的研究。就目前而论,对病毒方面的研究远远超过对受体方面的研究。Luo 等对 Mengo 病毒结构的研究已深入到  $3 \text{ \AA}$  的原子结构水平<sup>[16]</sup>。Crowell 等从事小核糖核酸类病毒的研究 20 余年,已基本弄清这类病毒的结构,尤其是与病毒吸附部位 (Virion Attachment Site, VAS) 有关的结构<sup>[7-8,17]</sup>。这类病毒的分子量大约为  $8.5 \times 10^6 \text{ Dal}$ , 其中 30% 左右为 RNA。病毒颗粒直径约  $300 \text{ \AA}$ , 蛋白外壳为二十面体立体对称, 由四种病毒多肽 (Virion Polypeptides, VP) 组成, 依其分子量大小的顺序排为  $VP_1$ ,  $VP_2$ ,  $VP_3$  和  $VP_4$ <sup>[6]</sup>。 $VP_1$ ,  $VP_2$  和  $VP_3$  主要形成衣壳的外层, 而  $VP_4$  居于外层与核酸之间, 对稳定衣壳的结构起了重要作用 (参见图 2)。 $VP_1$ ,  $VP_2$  和  $VP_3$  各自形成  $\beta$  片层结构, 并在二十面体的轴顶形成大约  $25 \text{ \AA}$  深度的“峡谷” (canyon)<sup>[18]</sup>, 与相应受体互补, 该部位即 VAS, 参与该部位组成的 VP 即病毒吸附蛋白 (Virion Attachment Protein, VAP), 并且 VAP 往往是多拷贝的<sup>[9]</sup>。 $VP_1$  是该“峡谷”的壁和底的主要组成成分, 其组成相对稳定。Smith 认为, 中和抗体是与围绕在“峡谷”周围、高度可变的病毒蛋白结合<sup>[18]</sup>; 而 Crowell 认为, 由于“峡谷”太窄, 抗体不能进入“峡谷”<sup>[7]</sup>, 故推测  $VP_1$  在诱导中和抗体的产生上不起主要作用。而  $VP_2$  常以五聚体形式位于轴顶, 且 Beatrice 等仅用 CVB<sub>3</sub> 的  $VP_2$  就诱导产生了中和性抗体<sup>[19]</sup>, 并认为  $VP_2$  与该病毒的 VAP 有关。当然, 不同病毒诱发中和抗体的 VAP 是不同的, 如脊髓灰质炎病毒是  $VP_4$ <sup>[20]</sup>, 而心肌炎病毒、Mengo 病毒是  $VP_1$ <sup>[21]</sup>。总之, VAP 在维持 VAS 的结构, 诱导中和抗体的产生上具有重要作用。



图2 小 RNA 病毒结构模式图  
Fig2. Hypothetical structure of picornavirion

VAS 不仅与病毒同宿主细胞的吸附有关, 还与病毒核酸的释放有关。根据 Crowell

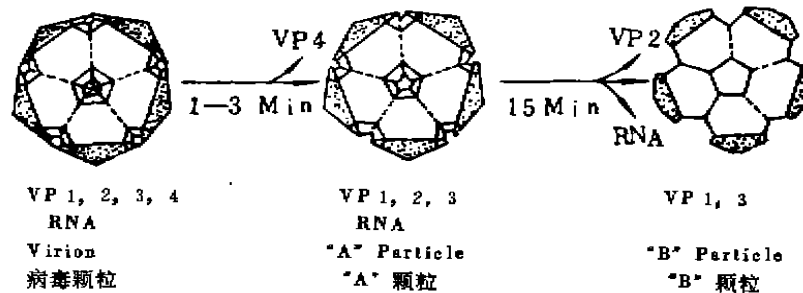


图3 CVB<sub>3</sub> 经尿素处理后 VP 的演变情况

Fig3. Sequential release of virion polypeptides following treatment of CVB<sub>3</sub> with urea

和 Siak 的实验证实<sup>[22]</sup>, 用 3mol/L 尿素, pH9, 37℃ 处理 CVB<sub>3</sub>, 最先丢失的是 VP<sub>4</sub>, 使病毒颗粒变成“A”颗粒; 而“A”颗粒丢失 VP<sub>2</sub> 后则变成“B”颗粒并释放 RNA (参见图 3)。这与受体作用下的隐蔽期内病毒颗粒发生的改变是一致的<sup>[7,9]</sup>。由此可见, VAS 与病毒颗粒的解聚密切相关。

### 四、病毒受体的特性

病毒受体是指细胞膜上能识别 VAS、并与 VAS 结合的结构<sup>[17]</sup>。近年来, 由于 VAS 研究的深入, Rossman 假设了这样一种病毒受体, 它具有五重对称, 突出于细胞膜, 能

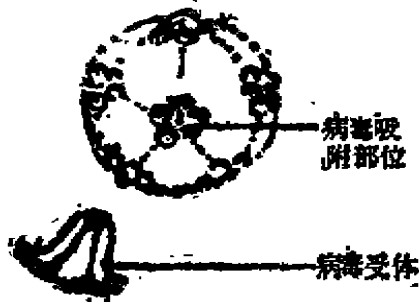


图 4 病毒及其受体模式图<sup>[7]</sup>

Fig4. Model of virus and its receptor

与 VAS 的“峡谷”形成紧密结合(参见图 4)<sup>[17]</sup>。这种假设从已经分离到的病毒受体得到了证实。如 CVB 的受体为 50KD 的糖蛋白, 人类鼻病毒(HRV)的受体为 90KD 的糖蛋白, 二者均可聚合形成具有五重对称的五聚体。受体在细胞表面的分布也是多拷贝的, 多数病毒在每个易感细胞上大约有 10<sup>4-5</sup> 个受体<sup>[17]</sup>。这也说明病毒与细胞的接合是多价的。

病毒受体的化学本质大多数是糖蛋白, 偶尔也有的是糖脂。如已经知道的就有: 仙台病毒的受体是一种神经节苷酯, 水泡性口炎病毒的受体是一种糖

与病毒受体有关的激素受体、抗原或分子<sup>[7]</sup>

Hormone Receptors, Antigens or Molecules Associated with Virus Receptors

病毒 Virus	受体成分 Components of Receptors
<b>包膜病毒 Enveloped Virus</b>	
Semliki 病毒	H-2K 和 H-2D 抗原
EB 病毒	C <sub>3</sub> 受体
HIV	CD <sub>4</sub> (T <sub>4</sub> )抗原
Moloney 鼠白血病病毒	110-KD 糖蛋白
狂犬病毒	乙酰胆碱受体
水泡性口炎病毒	磷脂或磷脂
乳酸脱氢酶病毒	血型糖蛋白 A 的唾液酸寡聚糖
仙台病毒	神经节苷酯
牛痘病毒	表皮生长因子受体
鼠肝炎病毒	100-110 KD 糖蛋白
<b>无包膜病毒 Nonenveloped Virus</b>	
T <sub>3</sub> 呼肠病毒	β-肾上腺素受体
脑心肌炎病毒	血型糖蛋白 A
B 组柯萨奇病毒	49.5KD 糖蛋白
鼻病毒	90KD 糖蛋白
腺病毒	42KD 糖蛋白
多瘤病毒	25-、50-、95- 等 KD 蛋白

脂。还有些病毒的受体是单纯蛋白(参见下表)。Allaway 等研究发现<sup>[3]</sup>, 心肌炎病毒的受体为血型糖蛋白 A, 该蛋白由 131 个氨基酸和 16 个唾液酸寡糖侧链组成, 其 N 末端的 35—39 位氨基酸和附着在节 37 位苏氨酸上的唾液酸寡糖侧链在参与病毒结合中起了很重要的作用。

有些病毒受体是与细胞功能密切相关的<sup>[6]</sup>。如狂犬病毒受体为神经细胞上的乙酰胆碱受体, EB 病毒受体为 B 淋巴细胞表面的 C<sub>3</sub> 受体, 而流感病毒受体与人类血型糖蛋白 A 有关, 人类免疫缺陷综合征病毒(HIV)的受体已证实是簇分化抗原 CD<sub>4</sub> (参见表)。

## 五、病毒-受体反应动力学

前已述及, 病毒与受体的反应同酶和底物、抗原和抗体反应一样, 因而很多学者致力于它们的动力学研究<sup>[9,17,28]</sup>, 并发现了一定规律。

首先, 病毒-受体间的结合, 主要靠一些非共价键起作用<sup>[4]</sup>, 这里包括静电引力、范德华力、氢键、离子键等。其中起主要作用的力是静电引力, 因而电荷是病毒-受体反应的主要影响因素。

根据 Lonberg-Holm 和 Joklik 研究结果<sup>[17,28]</sup>, 病毒-受体反应符合一级反应, 可用数学公式描述之。其公式为:  $\frac{V_t}{V_0} = e^{-Kt}$ , 其  $V_0$ 、 $V_t$  为游离病毒在 0 和 t 分钟时的浓度, K 为吸附常数, t 是单位时间(分钟), C 是细胞浓度。由此可见, 病毒-受体反应还受多因素的影响, 其中主要包括以下几个方面。

### (一) 受体方面的因素:

1. 细胞浓度: 每个细胞上病毒受体的数量是相对稳定的, 多在  $10^{4-5}$  个。根据 Lonberg-Holm 的实验结果<sup>[17]</sup>, 细胞浓度多选择在  $5 \times 10^7/\text{ml}$  为宜。

2. 细胞生长时相: Morishima 等在实验中发现, 快速生长期细胞对病毒的吸附率是非分裂期细胞的 10 倍<sup>[24]</sup>, 且受体的表达还受到外界因素刺激的调节<sup>[6]</sup>。

### (二) 病毒方面的因素:

1. 病毒颗粒的浓度: 一旦宿主细胞数目确定后, 则病毒受体数也就相对固定下来, 因而病毒只能在受体数目范围内发生反应。病毒颗粒的浓度以  $5 \times 10^{11}/\text{ml}$  为宜<sup>[17]</sup>, 这样便可为每个细胞提供  $10^4$  个病毒颗粒, 以利其充分结合。

2. 各种病毒抑制剂的存在与否, 也可影响病毒-受体的反应<sup>[8,17]</sup>。如中和抗体的存在, 则可明显抑制 VAS 与受体的结合; 或者用蛋白水解酶处理病毒, 则会破坏 VAS 结构, 使之失去与受体结合的能力。

### (三) 其它因素:

其它因素主要指病毒-受体反应的环境因素。其中主要包括: ①温度: 温度过高或过低均不利于病毒-受体的结合<sup>[17]</sup>。②酸碱度: 不同病毒对酸碱度的要求不同, 而最适 pH 的范围一般在 pH4.0—8.5<sup>[8,17]</sup>。③离子的种类和浓度: 一些阳离子(如  $\text{Ca}^{++}$ 、 $\text{Mg}^{++}$ ) 对病毒-受体反应有促进作用。④环境的粘滞度及疏基化合物的存在与否, 都可能影响病毒-受体反应<sup>[6]</sup>。

## 六、病毒受体的研究方法

病毒受体研究同其它受体研究一样,常用饱和分析法、竞争分析法。研究中必需具备一个特异性强、亲和力高的探针。这个探针可以是高纯度的病毒成分,也可能是与受体结合的抗体。这里的抗体包括抗受体的抗体和抗配体抗体的抗独特型抗体(Anti-Idiotypic Antibody, Ab<sub>2</sub>)。这是根据 Jerne 的免疫网络学说和“内影象”概念<sup>[25]</sup>,其中某些 Ab<sub>2</sub>具有模拟抗原的作用<sup>[26]</sup>的原理而建立的研究受体的新方法<sup>[27]</sup>,这也是近年研究受体的新进展。研究病毒与受体的结合、病毒的纯化要求较高的条件,还涉及到病毒的亲和力、稳定性及适用性。而受体的提取则更困难一些。一则宿主细胞成分复杂,二则缺乏理想的溶剂,它既要使受体从细胞上解离下来,而又不破坏其生物学活性,三是缺乏良好的可溶性受体的鉴定方法<sup>[17]</sup>。这些阻碍了病毒受体研究的进展。现将病毒受体探针制备可行的方法简述如下。

1. 抗细胞血清: Axler 和 Crowell 等用 Hela 细胞免疫家兔,经吸收试验后,成功地分离到了针对 CVB 受体的特异性抗体<sup>[28]</sup>,并用该抗体阻断了 CVB 对 Hela 细胞的吸附。还可利用这种抗体做各种标记,以进一步研究细胞上受体的情况。

2. 抗受体法:虽然受体提取很困难,但也有不少学者在不断探索。Mapoles 通过病毒-受体复合物,建立了提取受体的方法<sup>[29]</sup>。因此,可通过制备抗受体抗体,并以此作为研究受体的高度特异性、高度亲和力的探针<sup>[8]</sup>。而且还可通过杂交瘤技术获得单克隆抗体,这不仅可使特异性增强,还可长期稳定获得均一的抗体。

3. 抗病毒抗体的抗独特型抗体法:前已述及某些 Ab<sub>2</sub>具有模拟抗原的作用<sup>[26]</sup>,很多学者在受体研究方面做了不懈努力<sup>[27]</sup>。首先突破的是 Sege 和 Peterson,他们在 1978 年就制备出视黄醇结合蛋白的抗独特型抗体,并发现该抗体可模拟视黄醇结合蛋白与视黄醇结合蛋白受体结合<sup>[30]</sup>。1983 年,他们又制备出抗胰岛素抗体独特型的抗体,该抗体也能特异地与胰岛素受体结合<sup>[31]</sup>。由于抗独特型抗体的分子模拟作用为受体研究闯出了一条新路<sup>[32]</sup>,加上病毒衣壳蛋白相对容易纯化,有些学者采用抗病毒抗体独特型的抗体来研究病毒受体。Nepom 等 1982 年用此方法研究了哺乳动物呼肠孤病毒受体, Ardman 等 1985 年也用该法研究了白血病病毒受体<sup>[32]</sup>,均获得成功。

4. 通过对 VAP 的分子生物学研究,可用分子克隆及多肽合成技术,制备出高度特异的 VAP,也可作为研究病毒受体的极好探针。

## 七、研究病毒受体的意义

归纳起来,研究病毒受体有以下几方面的意义。

1. 研究病毒受体不仅能阐明病毒感染时的宿主范围、组织或细胞嗜性,而且可从分子水平阐明病毒的吸附机理和传播方式,这无疑对阐明病毒的致病机理奠定了分子基础。

2. 依据病毒受体可对病毒进行分类。根据 Crowell 等的研究证实<sup>[9]</sup>,用受体法对

病毒进行分类与以前根据疾病和病理的分类是一致的。并且受体法更准确,简单明了。

3. 在病毒性疾病的预防上,为疫苗的生产提供依据。通过病毒受体的研究,可揭示病毒 VAS 的特殊组成和结构,以便制备更有效的疫苗、亚单位疫苗或分子疫苗。同时,还可考虑针对病毒受体的特异性免疫,为受体疫苗开辟新的途径。

4. 指导设计抗病毒的新型药物。Smith 等对抗病毒药物 WIN 51711 和 WIN 52084 的研究发现,这两种药物是作用于鼻病毒 VAS “峡谷”的底部,阻断了离子通道入口,从而干扰了该病毒与受体的结合和脱壳<sup>[18]</sup>。因此,完全可以根据 VAS 或受体结构,从药物构效关系上合成新的抗病毒药物。

## 八、结束语

近年来,病毒受体的研究正不断深入。从病毒方面,已进入分子和原子水平;受体方面也从定位、定量深入到分子结构和构象的研究;研究方法也不断更新。这无疑会给病毒致病机理的研究和防治带来重大突破。但是,目前已研究的病毒范围是有限的,对于病毒-受体结合后的研究也是有限的,病毒受体与细胞功能的关系多数仍然是未知数。所以,尚需不断深化这方面的研究。可以相信,随着分子生物学、遗传学等学科的发展,新技术的广泛应用,病毒受体的研究将会越来越受到重视,研究的成果也会逐年扩大。

## 参 考 文 献

- [1] Walton JN., 1981, in *Pathophysiology* (Smith LH & Thier SO, Ed), London, Philadelphia, Toronto, W.B. Saunders Company, 1265-1275.
- [2] Thung SN et al., 1984, *Seminars in liver disease* 4: 69.
- [3] Allaway CP et al., 1986, *J Virol* 58: 768.
- [4] Smith HR & Steinberg AD., 1983, *Ann Rev Immunol* 1: 175.
- [5] Lindstrom J., 1985, *Ann Rev Immunol* 3: 109.
- [6] Rossini AA et al., 1985, *Ann Rev Immunol* 3: 289.
- [7] Crowell RL., 1987, *ASM News* 53: 422.
- [8] Notkins AL & Michael BA Oldstone., 1984, *Concepts in viral pathogenesis*, New York, Berlin, Tokyo, Springer-Verlag New York Inc. 97-134.
- [9] Crowell RL & Landau BJ., 1983; in *Comprehensive Virology* (Heinz Fraenkel-Conrat & Wagner RR, Ed), New York, London, Plenum press, 1-33.
- [10] Mckusick VA., 1980, *Am J Med* 69: 267.
- [11] 徐如良, 1987, 国外医学微生物学分册, 10: 193.
- [12] Imai M et al., 1979, *Gastroenterology* 76: 242.
- [13] Trevisan A et al., 1982, *Hepatology* 2: 832.
- [14] McCareul C et al., 1959, *J Exp Med* 109: 475.
- [15] Markwell MA et al., 1986, *Virology* 155: 356.
- [16] Luo M et al., 1987, *Science* 235: 182.
- [17] Crowell RL & Landau BJ., 1981, in *Virus Receptors part 2, Animal Viruses* (K Lonberg-Holm & Philipson L, Ed). London, New York, Chapman and Hall 169-184.

- 
- [18] Smith TJ et al., 1986, *Science* 233 : 1286.
- [19] Beatrice ST et al., 1980, *Virology* 104 : 426.
- [20] Breindl M., 1971, *Virology* 46 : 962.
- [21] Horden JS et al., 1979, *Virology* 97 : 131.
- [22] Crowell RL & Siak JS., 1976, *Perspect Virology* 10 : 39.
- [23] Joklik WK., 1980, *Principle of Animal Virology*. New York. Appleton Century-Crofts, 77-122.
- [24] Morishima T et al., 1982, *Virology* 116 : 605.
- [25] Jerne NK., 1974, *Ann Immunol* 125c : 373.
- [26] Kennedy RC, 1985, in *Current Topics in Microbiology and immunology* (Koprowski H & Melechers F, Ed) Berlin, Heidelberg. Spring-Verlag 119 : 1-15.
- [27] Venter JC & Fraser CM., 1984, *Monoclonal and anti-idiotypic antibodies probe for receptor structure and function*. New York. Alan Rliss, Inc. 1-187.
- [28] Axler DA et al., 1968, *J Virology* 2 : 813.
- [29] Mapoles JF et al., 1985, *J Virology* 55 : 560.
- [30] Sege K & Peterson PA., 1978, *Nature* 271 : 167.
- [31] Sege K & Peterson PA., 1983, *Proc Natl Acad Sci USA*, 75 : 2443.
- [32] Galton GN & Greene MI., 1986, *Ann Rev Immunol* 4 : 253.
-