

Structural and Non-Structural Proteins of Porcine Epidemic Diarrhea Virus against Congenital Immunity of Host Cells

Peng Yuan*, Zhou Yang*, Kai Wang, Yang Yang, Shilei Huang, Luyi Xie, Zhenhui Song[#]

Department of Veterinary Medicine, Southwest University, Chongqing
Email: #szh7678@126.com

Received: Mar. 22nd, 2018; accepted: Apr. 5th, 2018; published: Apr. 12th, 2018

Abstract

Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) is a central intestinal pathogen, causing porcine epidemic diarrhea in piglets, which is one of the most vital reasons why plenty of countries have been caught sight of substantial economic losses in animal husbandry. About innate immune response, to some extent, Toll-like receptors (TLRs), transcription and activation of interferon (IFN) resulted in a few influences on anti-virus immune. The latter was served as a critical role in the defensive shields against the viral infection. The host could be efficaciously infected by PEDV through the obstacle. There are series of sophisticated strategies to resist virus for host cells. Currently it has been spotted that excellent improvement took place in some studies about the host innate immunity regulated by PEDV. To escape from host-innate immune response PEDV adopts two approaches, originally PEDV encodes viral proteins as interferon antagonists, and its pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) would be hid then remain undercover. Non-structural proteins and some proteases of PEDV have been posed some impact on the process. This review illustrates the current grasp on innate immune response of host cells to anti-PEDV covering major proteins between the structural and the non-structural of PEDV to analyze several critical mechanisms on cellular entry of porcine epidemic diarrhea virus, further providing important theoretical grounds for exploring infectious immunity and pathogenic mechanisms of PEDV and supplying the main practical support for its clinical vaccines or medicine research.

Keywords

Porcine Epidemic Diarrhea Virus, Innate Immune Response, N Protein, Non-Structural Proteins

猪流行性腹泻病毒的结构和非结构蛋白应对宿主细胞先天性免疫

袁 芃*, 杨 舟*, 王 凯, 杨 洋, 黄石磊, 谢录异, 宋振辉[#]

*袁芃和杨舟同为第一作者。

[#]通讯作者。

文章引用: 袁芃, 杨舟, 王凯, 杨洋, 黄石磊, 谢录异, 宋振辉. 猪流行性腹泻病毒的结构和非结构蛋白应对宿主细胞先天性免疫[J]. 微生物前沿, 2018, 7(2): 39-47. DOI: 10.12677/amb.2018.72005

西南大学动物科学学院动物医学系, 重庆
Email: #szh7678@126.com

收稿日期: 2018年3月22日; 录用日期: 2018年4月5日; 发布日期: 2018年4月12日

摘要

猪流行性腹泻病毒(PEDV)是一种肠道致病菌。它引起仔猪流行性腹泻, 这是许多国家在畜牧业中出现重大经济损失的最重要原因之一。在某种程度上, Toll样受体(TLRs)的转录和干扰素(IFN)的激活这两种先天免疫反应对抗病毒免疫有一定的影响。后者在抵御病毒感染的防御中发挥了关键作用。PEDV可以有效通过屏障感染宿主。宿主细胞有一系列复杂的策略来抵抗病毒。目前已经发现, 在一些研究中, PEDV调控的宿主先天固有免疫出现了很大的提升。为了逃避宿主-先天免疫反应, PEDV采取了两种方法, PEDV将病毒蛋白编码为干扰素拮抗剂, 其病原体相关的分子模式(PAMPs)被隐藏。PEDV的非结构蛋白和一些蛋白酶对这一过程有一定的影响。本文介绍了当前对宿主细胞抗PEDV的先天免疫反应, 这过程涉及了PEDV的结构性和非结构性的主要蛋白质, 并且分析了几个PEDV入侵细胞的关键机制, 进一步为探索PEDV传染性免疫和致病机制提供重要的理论依据, 并为临床疫苗或药物研究提供主要的实践支撑。

关键词

猪流行性腹泻病毒, 先天免疫反应, N蛋白, 非结构蛋白

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

PEDV 是可以感染猪的小肠上皮细胞的一种 I 型冠状病毒[1]。它与传染性胃肠炎(TGE)有相似的临床症状, PEDV 导致腹泻, 从而造成哺乳仔猪的高死亡率, 这种损害没有发生在 4~5 周龄的小猪, 这可能是主要用来区分 PED 和 TGE 的特征[2]。另外, 野猪也会被 PEDV 感染, 急性水性腹泻、脱水和呕吐认为是该病的主要特征。就经济方面而言, PED 已经在不同的国家造成了巨大的损失。在 20 世纪 70 年代早期的比利时和英国, 第一个被证实发生在猪场的 PEDV 是从饲养猪和肥猪的身上检测出, 在大约 7 年后, PEDV 被检测为该病的主要病因[3]。从那时起, 在 1982 年, 在中国和韩国的一些亚洲国家发现了 PEDV, 导致了乳猪的高死亡率, 席卷了亚洲大部分地区, 并导致了 2010 年以来亚洲养猪业巨大的经济损失[4] [5] [6]。后来, 美国也被发现有 PEDV [7]。

先天免疫系统一直被认为是保护宿主免受病毒入侵的第一道防线[8]。在这些影响因素中, I 型干扰素(IFN- α/β)的转录和激活的在某种程度上对病毒有抵御作用。早期的报告显示, PEDV 通过其结构蛋白、非结构蛋白和蛋白酶的功能来降低 IFN 的抗病毒活性, 抑制机体通过 IFN 产生的防御机制。PEDV 感染 vero 细胞和肺泡巨噬细胞, 发现机体生产的 IFN- α/β 明显降低[9] [10]。此外, 通过转染病毒的 dsRNA, 发现 PEDV 降低 IFN- α/β 活性[11]。PEDV 的一些关键蛋白参与一系列复杂的抗病毒策略, 这些蛋白不仅包括结构蛋白(N 蛋白), 还包括非结构蛋白(nsp1, nsp5 和 PLP2)。在这一过程中, 人类冠状病毒(SARS-CoV 和 NL63-CoV)的核衣壳(N)蛋白类蛋白酶可以作为宿主对抗病毒感染的 IFN 拮抗剂, 来减少由真核细胞 I

型干扰素合成和分泌。在这些过程中,病毒蛋白水解和去泛素化活动对干扰抗 RNA 病毒复制的 IFN 效应产生重要的影响。

2. 先天免疫

通常情况下,在各种冠状病毒的感染过程中,一些具有特定功能的蛋白质编码,逐渐形成一套反应机制来阻碍和逃逸宿主先天免疫,并将抗病毒药物分解,这个对 PEDV 也不例外。多种防御机制将在机体受到病毒感染后,抵御外来病原体入侵或监测和清除体内异常细胞,保护宿主免受其侵袭的防御机制可被称为先天免疫系统。病原体相关分子模式(PAMPs)可以被细胞表达的模式识别受体(PRRs)来感知,包含一些在病原微生物入侵或复制的过程中的保守分子。毫无疑问,在诱导抗病毒免疫反应的特异性和效率方面,产生中和抗体和激活细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)或自然杀伤细胞是必要的,但其他宿主细胞仍可提供免疫机制,以防止病毒感染。本文简要介绍了在宿主固有免疫过程中, Toll 样受体在抗病毒免疫或者干扰转录激活的作用。

2.1. 在抗病毒免疫中的 Toll 样受体(TLRs)

TLRs 是一种 I 型跨膜蛋白家族,它可以识别不同的 PAMPs。TLR3 识别的 PEDV dsRNA 也被认为是一种 PAMPs。在病毒入侵后,细胞外的亮氨酸重复区识别并结合产生的 PAMPs。而细胞质区域负责招募含有 TIR 域的连接分子蛋白,从而刺激下游的信号级联反应[12]。TLR 识别 PAMPs 后,TLR 的细胞质区域中结合下游连接分子来联合刺激一系列的信号转导分子,激活转录因子如 NF- κ B AP-1 IRF-3, 这些因子可以调节促炎细胞因子和趋化因子的产生,抑制病原体入侵。

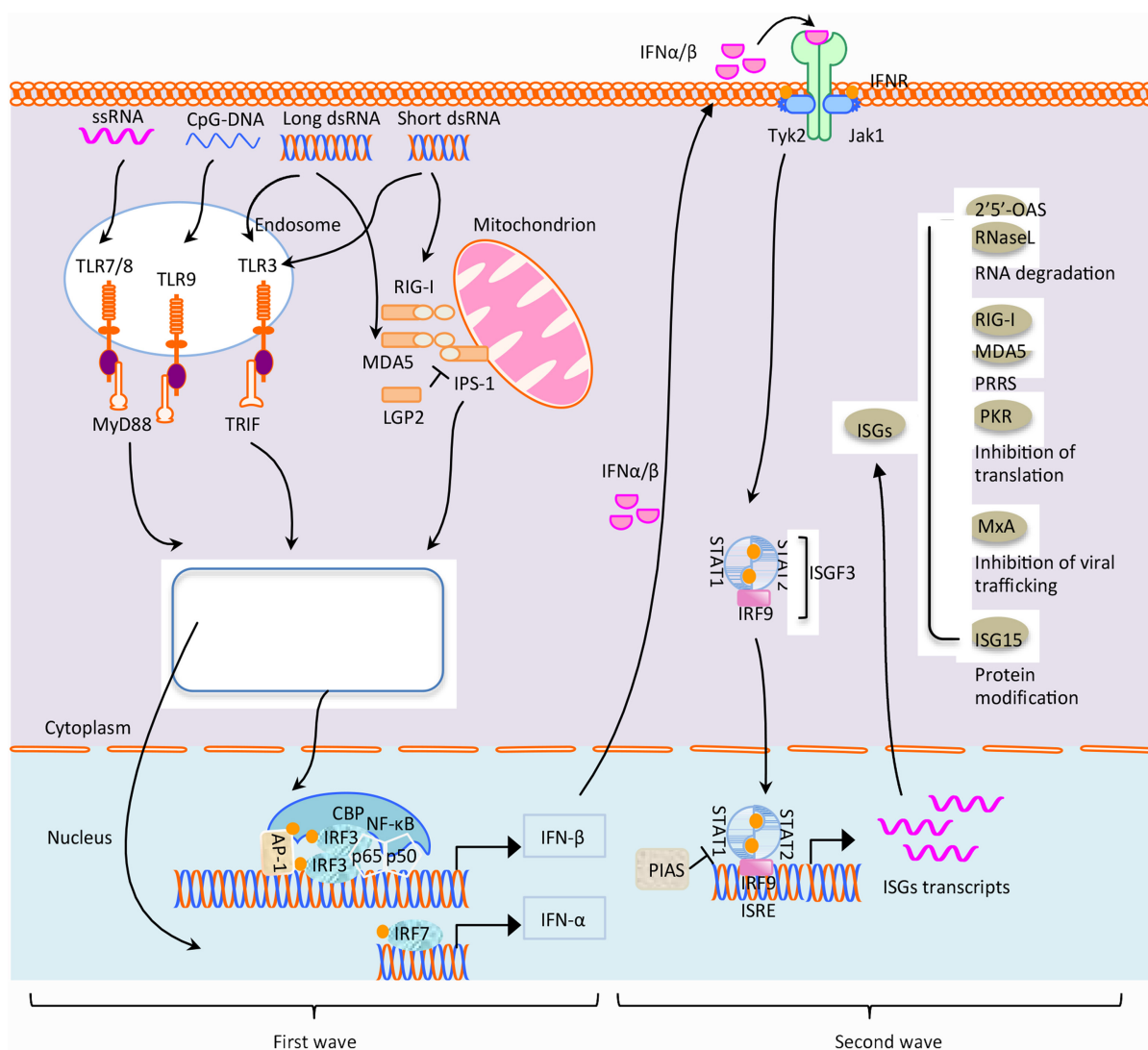
在细胞中广泛分布的 TLRs 能够识别细菌性病原体 - 介导的先天免疫反应,并在宿主受到病毒刺激后对其免疫应答反应。TLR2 可以鉴定广泛的 PAMPs, 包含细菌、真菌、寄生虫和病毒衍生物, TLR4 是鉴定细菌脂多糖的关键受体[13]。检测到不同类型的病毒 RNA 后(见图 1),核内体 TLRs (TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9)可以被激活,这些 TLRs 的表达将促进 I 型 IFNs 和其他抗病毒细胞因子的产生。TLR3 分布更为广泛,但主要表达在传统的 DCs 细胞[14] [18]。在 dsRNA 非应答细胞系的 293 细胞中,使人类的 TLR3 过表达能增强 dsRNA-调节的 NF- κ B 激活。相关研究表明,小鼠的 TLR7 可能识别另一种复合物[15],名叫洛索立宾(免疫兴奋剂)。它在抗病毒和抗肿瘤活性方面起着重要作用[16] [17]。TLR7 和 TLR8 能够识别病毒鸟嘌呤或鸟苷酸丰富的 ssRNA, 如人体免疫缺陷病毒(HIV)、水疱性口炎病毒(VSV)和流感病毒(IV) [15] [18] [19]。通过对染色质结构的鉴定,发现在几种自身免疫性疾病的发病机制中,TLR9 起着一定的作用。

2.2. 干扰素的转录和激活

病原微生物感染宿主,其 PAMP 在宿主体内受到广泛分布的 PRRs 监视, PRRs 被激活并募集下游相关蛋白,从而触发一系列磷酸化或泛素化调节信号级联,最后核因子 κ B (NF- κ B)和干扰素调节因子(IRFs)诱导干扰素(IFN)和促炎细胞因子的表达[12]。

IFN 和 IFN 诱导的细胞抗病毒反应是避免病毒感染的首要防御机制。IFN 是一种低相对分子质量的细胞因子,具有广泛的生物学活性,如广谱抗病毒、抗肿瘤、免疫调节等功能。猪干扰素可分为 I 型和 II 型。IFN- α IFN- β 是 I 型干扰素,它们有很好的抑制病毒复制和抗肿瘤的效果。II 型干扰素只有 IFN- γ , 主要参与免疫调节和炎症反应。

PEDV 在复制过程中可以编码一系列的蛋白质抑制 I 型 IFN 的转录和激活,有一些发挥拮抗剂作用。在病毒显阴性的情况下, IFN 产生后,所有的有核细胞的刺激 I 型 IFN 的产生,但 II 型 IFN 只能由少数的细胞分泌,如自然杀伤细胞、活化的 T 淋巴细胞和巨噬细胞[20]。



在感染期间,在宿主模式识别受体识别病原体分子后,IFN- α/β 转录水平的调控。首先,在细胞内的核内体中,病毒的 dsRNA, ssRNA, CpG DNA 可以单独激活 TLR3, TLR7/8 和 TLR9,导致受体的二聚化,干扰素调节因子 IRF3/IRF7 的激活,该过程通过 TRIF 的组装 MyD88 的募集和 AP-1 的激活的信号级联启动后,NF- κ B 发挥作用。RIG-I 和 MDA5 的 RIG-I-like 解旋酶可以识别病毒 RNA 启动 IFN- β 刺激器 1(IPS-1) 调整不同监管因素或激酶。通过半胱天冬酶的活化和 RIG-I 和 MDA5 的募集区域,以促进 IRF3/7 和 NF- κ B 通路的激活,诱导 IFN- α 和 IFN- β 伴随 cAMP-反应元素结合蛋白(CBP)的转录,从而产生 I 型干扰素。随后,只要 IFN- α 和 IFN- β 快速分泌到细胞外,干扰素受体(IFNR)以自分泌和旁分泌的方式识别 IFN- α/β ,引起 JAK/STAT 通路的激活。伴随着受体相关的 JAK1 的磷酸化,SH2 区域磷酸化可以募集 STAT1 和 STAT2。灰色圆圈表示泛素化,黄色的圆圈表示磷酸化。

Figure 1. Signal pathways for IFN-I production and relative gene expressions [25]

图 1. IFN-I 产生的信号通路和相关基因表达[25]

IFN 能唤醒 NK 细胞和树突状细胞启动适应性免疫系统。干扰素和细胞因子的表达将收到相关干扰素和细胞因子的调节,并由生殖细胞系基因编码的模式识别受体(PRRs)激活。PRRs 识别病原体的 PAMPs,将信息传递到下游信号分子中,大部分的 RNA 病毒能被 PRRs 感知比如细胞内 TLR3、TLR7 和 RIG-I 或 MDA5,最后诱导 I 型 IFN 的生成。dsRNA 病毒复制的产物可以被 TLR3 和 RIG-I 识别的,然后信号应该通过在不同的适配器蛋白质的运动,传递给下游 TANK-结合激酶 1 (TBK1)和抑制性 κ B 激酶 ϵ (IKK ϵ) [21] [22] [23]。激活的 TBK1/IKK ϵ 导致 IRF-3 的活化和磷酸化。核易位将发生在磷酸化的 IRF-3 并和 DNA 元素结合,激活转录干扰素 α 和干扰素 β [21] [24]。IRF-3 和 IRF-7 在 IFN α/β 的诱导和产生扮演重要的角色。

病毒复制过程中,产生的 dsRNA 是一种 PAMP 可以触发 PRRs 并诱导 IFN α/β 的表达。Toll 样受体和 RIG-I 受体这两个 PRRs 主要负责识别在宿主中的病毒的 dsRNA, IFN- β 的表达是分别由 TLR3/TRIF 通路和 RIG-I/MDA5/IPS-1 通路调节。TLR3/TRIF 是识别细胞内的 dsRNA 的主要途径,但 RIG-I/MDA5/IPS-1 总是可以在细胞质中激活。IFN 在生产后并没有直接发挥抗病毒作用,但它结合自身或相邻细胞膜上的特异性受体,然后通过下游的 JAK/STAT 途径引起许多效应分子的表达,如 IFN 诱导基因(ISGs)和转录因子的表达,最终完成抗病毒作用。因此,该生物活性并不存在于干扰素本身。

干扰素 α/β 结合受体使磷酸化 Jak 和 Tyk2 激酶。JAK 和 Tyk2 是 STAT1 和 STAT2 的激活子。STAT1 和 STAT2 磷酸化后形成 IRF9 的相关二聚体,从而产生干扰素刺激基因 3 (ISGF3)复合物。只要 ISGF3 复合物进入细胞核,磷酸化的 STAT1 和 STAT2 就会伴随着脱磷酸化后回到细胞质中。主要研究了各种类型的 ISGs,比如 MxA、OAS-1/RNase L、RIG-I/MDA5、ISG15 和 PKR,它们均为抗病毒效应分子。

3. PEDV 在 I 型干扰免疫反应的逃逸

虽然干扰素系统具有巨大的抗病毒活性,但 PEDV 的感染也不能完全控制。在宿主抗病毒先天免疫反应,I 型干扰素(IFN α/β)是最快速有效的抗病毒反应。相对而言,PEDV 在某种程度上对 I 型干扰素具有一定的抵抗力。在进化过程中,包括 PEDV 在内的许多病毒都形成了一种精细对抗干扰素信号通路的策略,使其在宿主细胞中感染和扩散[26]。另外,PEDV 表达的不同的蛋白质采取不同的方法对抗,或隐藏其 PAMPs-dsRNA 以达到逃逸 I 型干扰素介导的抗病毒免疫应答。

3.1. PEDV N protien 抗宿主先天性免疫

冠状病毒的核衣壳(N)蛋白是病毒感染细胞中最丰富的蛋白质。先前的研究已经发现,PEDV 感染抑制 I 型 IFN 的合成。病毒的木瓜样蛋白酶 2 认为是 IFN 拮抗剂。但[27]发现仙台病毒诱导的 IFN- β 的产生、干扰素调节因子 3 (IRF3)的激活,和 NF- κ B 这三者会受到 PEDV N 蛋白抑制。

有四种 IKKs 在宿主防御系统的调节中扮演重要的角色,其中包括经典 IKKs(IKK α 和 IKK β)和 IKK-related 激酶(IKK ϵ 和 TBK1) [28]。在 RNA 病毒感染的信号通路和诱导 IFN 产生的过程中,TBK1 中起着不可替代的作用,它调节 IFN 和细胞因子的抗感染机制。TBK1 (TANK-结合激酶)是与 IKK 相关的激酶之一,其对于 IRF3/7 的磷酸化和活化非常重要。IRF3/7 的磷酸化和活化与蛋白二聚、核易位、DNA 结合以及 IFN-I 应对病毒感染的诱导等生物活动相关联[22] [29] [30] [31] [32]。TBK1 稳定性的抑制或破坏有利于抑制 TLR、RLR 等相关通路的信号传递。进一步的研究表明,PEDV N 蛋白与靶向 TBK1 直接相互作用,这种相互作用会分解 TBK1 和 IRF3 的关联性,同时抑制 IRF3 的激活和 I 型 IFN 的产生[27]。结果表明,TBK1 可能是核衣壳蛋白作用的靶向信号分子之一。并且相关研究表明 TBK1 能够与 PEDV N 蛋白结合并使其磷酸化,从而对 PEDV 的致病性产生影响,该相关问题值得进一步研究。

3.2. PEDV nsp1 和 nsp5 抗先天免疫应答

作为 IFN 的拮抗剂,大多数病毒的 3C 或 3C 样蛋白酶可以裂解 I 型 IFN 的信号分子来抑制自然免疫反应,例如,NEMO 是 NF- κ B 基本调节元件,作为一个关键的集中调节元件可以从线粒体抗病毒蛋白的募集接收信号,比如 RLRs(视黄酸诱导基因 I 样受体)。NEMO 对 IKK 化合物基础调节,它是 NF- κ B 干扰素的合成过程中最重要的关键调节元件之一,也是 NF- κ B 的激活所必需。PEDV Nsp5 的半胱氨酸蛋白酶活性促进了 NEMO 的蛋白水解,它是一种 IFN 拮抗剂,它在谷氨酰胺 231 (Q231) [33]中编码 3C 样蛋白酶,并对病毒与宿主间的相互作用产生重大影响,这是 PEDV 感染机制的决定性因素。

PEDV 另一个非结构蛋白 nsp1 也是相关病毒的 IFN 拮抗剂,用于检测如何抑制依赖蛋白酶体通路的

I 型干扰素反应并抑制宿主干扰素基因合成[34] [35], 尤其在 PEDV 感染细胞后, 一旦包括结构和非结构蛋白在内的整个病毒基因序列克隆和表达后, IFN- β 的生成总是成为抑制的主要目标对象。除了 IFN- β 的抑制作用, 在其他 PEDV 非结构蛋白(nsp3, nsp7, nsp14~16)中, nsp1 也发现对 IRF3 启动子活性的抑制作用。它可以通过 CREB 结合蛋白(CBP)的降低, 打断 IRF3 和 CREB (cAMP-反应性元件结合)结合蛋白之间的连接结构, 但不能阻挡 IRF3 磷酸化或核易位, 一旦 TBK1 激活, 磷酸化 IRF3 进行二聚化之后, IRF3 磷酸化或核易位发生在隐蔽核定位信号过程中。该过程在 PEDV 致病性上发挥着重要的作用。

3.3. PEDV 的 dsRNA 和 PLP2 隐藏以逃避先天的免疫反应

PAMPs 和 PLP2 成为 PEDV 避免先天抗病毒免疫应答的最重要的方法。有一些来自病原体的表面的稳定分子结构, 它们在进化中高度保守, 并且在大量相关的微生物中是相同的, 但没有人类, 如病毒的 dsRNA 和细菌脂多糖。PRRs 视为免疫系统细胞表达的免疫受体, 识别为 PAMPs, 它的 RLR 受体与病毒的识别有密不可分的关系。RIG-I、MDA5 和 LGP2 是 RLR 受体的三种类型。RIG-I 和 MDA5 可以识别病毒的 dsRNA, 察觉不同的病毒入侵。随后当面对病毒感染时, 在细胞内出现了一些 dsRNA 诱导产生抗病毒 IFN-I。作为在细胞质 RNA 解旋酶的一类, RIG-I 受体结合 PAMPs 来识别包含 5'-三磷酸盐的 dsRNA 病毒, 但不是来自它自身[36], 长 dsRNA 也可以特异性结合 MDA5 [37]。通过这些相互作用感染的细胞能触发 RLRs 下游信号分子的激活, 从而显著促进 IFN-I 和相关的炎症因子的产生, 从而产生抗病毒的免疫反应。5'-cap 结构可以增加 mRNA 的稳定性和真核 mRNA 的翻译效率, 该结构形成与相关酶的修饰后的转录过程中。RLR 不能识别 cap 结构, 因为它不能在 RNA 5'端甲基化。对于冠状病毒的 RNA 修饰, 2'-O-甲基化和 N7-甲基化成为在许多与 mRNA 相关的过程中最重要的部分, 这似乎有助于自身和非自身病毒 RNA 的差异来应对先天抗病毒免疫, 病毒甲基化他们 mRNA 的 5'cap 结构[38] [39] [40] [41]。例如, 缺乏 2'-O-MTase 活性可能对 IFN-I 敏感, 从而导致其表达的增加。另外, 2'-O-甲基转移酶和 N7-甲基化分别由 nsp16 和 nsp14 编码, 使甲基化的 cap 结构安置在病毒 mRNA 达到 RNA 隐藏以避免 RLR 识别。

蛋白酶认为是在所有病毒复制周期中病毒 RNA 合成最重要的蛋白。除蛋白酶活性外, 相关蛋白分子的泛素化和无泛素化修饰功能在调节先天免疫信号通路的免疫反应中起着极其重要的作用。PEDV 编码的 PLP2 作为 I 型 IFN 的拮抗剂, 因为它的去泛素化 DUB 活性和干扰素拮抗活性, 有助于抑制 IFN-I 的表达, 以逃避先天免疫。根据初步研究, 人类 NL63 CoV (HCoV-NL63) [42]的类木瓜蛋白酶(PLP)也具有 DUB 活性, 可以降低 IFN 活性[43]。人类冠状病毒 SARS-CoV 发现产生大约 6 个先天免疫的拮抗物, 特别是在 SARS-CoV [44]中存在的 PLP 区域(非结构蛋白 3) nsp3。作为一种多功能蛋白质, PEDV 编码的 PLP2 是一个新的冠状病毒 DUB, 其活性的关键位点是 PLP2 的催化活性位点。但 PEDV PLP2 能识别 RIG-I 和 STING, 将泛素化结合的两种蛋白质分离起来这就是 PEDV PLP2 如何抑制 IFN 的反应。

4. 结论

一个国家的国民经济发展覆盖农业、商业、工业等各个领域, 促进各个地区的协调发展对国家建设是至关重要的。然而, 农业经济结合畜牧业发展是非常关键的, 具有相对较高的地位和作用。大多数肠道冠状病毒包括 PEDV, 可导致流行性腹泻病的传播, 导致猪群的局部感染甚至大规模爆发, 给养猪业带来巨大的经济损失, 因此畜牧业的发展必然受到威胁。先天免疫防御的损伤有助于 PEDV 感染宿主, 然而病毒侵入机体, 先天免疫细胞会立即启动病毒识别和抗病毒的反应, 产生具有抗病毒功能的分子, Toll 样受体(TLRs)和 IFN 发挥主导作用。在一系列防御功能被破坏的过程中, PEDV 的一些结构和非结构蛋白在一定程度上对其产生了一定的作用。

本文介绍一些重要蛋白的生物功能, 来解释他们如何躲避特异的抗病毒细胞因子(干扰素 α/β)和 I 型

跨膜蛋白(Toll 样受体)的防御功能,从而顺利入侵宿主。虽然 TBK1 与 IRF3 组合很微弱,但是结构蛋白 N 蛋白可以通过结合 TBK1 来抑制 IRF3 磷酸化,导致失去来自 TLR 和 RLR 的信号,降低 IRF3 的激活和干扰素(α/β)和 ISG3 的表达以减弱抗病毒效果。PEDV nsp5 蛋白质为 IFN 拮抗剂,它可以编码 3C 蛋白酶水解 NEMO,并作为必要的信号分子在干扰素反应抑制 NF- κ B 的功能。nsp3 蛋白在抗病毒过程中不仅可以削弱 IFN- β 的产生,还可以减弱 IRF3 和 CREB (而不是 IRF3 磷酸化)之间的结合。由于其具有独创性的结构功能, PEDV PLP2 的 DUB 功能和拮抗 IFN 激活的特性有利于抵抗先天性免疫。此外,对 PEDV mRNA 的未甲基化 5'-cap-结构不能被 RLRs 发现,以逃避固有免疫反应。深入了解 PEDV 如何逃逸宿主的防御策略,有利于揭示 PEDV 的发病机制,发现抗病毒药物的新靶点,从而为 PEDV 的防控奠定基础。

参考文献

- [1] Chen, J., Wang, C., Shi, H., Qiu, H., Liu, S., Chen, X., Zhang, Z. and Feng, L. (2010) Molecular Epidemiology of Porcine Epidemic Diarrhea Virus in China. *Archives of Virology*, **155**, 1471-1476. <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0720-2>
- [2] Pritchard, G.C., Paton, D.J., Wibberley, G. and Ibata, G. (1999) Transmissible Gastroenteritis and Porcine Epidemic Diarrhoea in Britain. *Veterinary Record*, **144**, 616-618. <https://doi.org/10.1136/vr.144.22.616>
- [3] Pensaert, M. and de Bouck, P. (1978) A New Coronavirus-Like Particle Associated with Diarrhea in Swine. *Archives of Virology*, **58**, 243-247. <https://doi.org/10.1007/BF01317606>
- [4] Li, W., Li, H., Liu, Y., Pan, Y., Deng, F., Song, Y., Tang, X. and He, Q. (2012) New Variants of Porcine Epidemic Diarrhea Virus, China, 2011. *Emerg. Infect. Dis.*, **18**, 1350-1353. <https://doi.org/10.3201/eid1803.120002>
- [5] Puranaveja, S., Poollperm, P., Lertwatcharasarakul, P., Kesdaengsakonwut, S., Boonsoongnem, A., Urairong, K., Kitikoon, P., Choojai, P., Kedkovid, R., Teankum, K. and Thanawongnuwech, R. (2009) Chinese-Like Strain of Porcine Epidemic Diarrhea Virus, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*, **15**, 1112-1115. <https://doi.org/10.3201/eid1507.081256>
- [6] Sun, R., Cai, R., Chen, Y., Liang, P., Chen, D. and Song, C. (2012) Outbreak of Porcine Epidemic Diarrhea in Suckling Piglets, China. *Emerging Infectious Diseases*, **18**, 161-163. <https://doi.org/10.3201/eid1801.111259>
- [7] Stevenson, G.W., Hoang, H., Schwartz, K.J., Burrough, E.R., Sun, D., Madson, D., Cooper, V.L., Pillatzki, A., Gauger, P., Schmitt, B.J., Koster, L.G., Killian, M.L. and Yoon, K.J. (2013) Emergence of Porcine Epidemic Diarrhea Virus in the United States: Clinical Signs, Lesions, and Viral Genomic Sequences. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **25**, 649-654. <https://doi.org/10.1177/1040638713501675>
- [8] O'Neill, L.A. and Bowie, A.G. (2010) Sensing and Signaling in Antiviral Innate Immunity. *Current Biology*, **20**, 328-333. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.01.044>
- [9] Charley, B., Riffult, S. and Van Reeth, K. (2006) Porcine Innate and Adaptive Immuneresponses to Influenza and Coronavirus Infections. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1081**, 130-136. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.014>
- [10] Laude, H., Reeth, K.V. and Pensaert, M. (1993) Porcine Respiratory Coronavirus: Molecular Features and Virus-Host Interactions. *Veterinary Research*, **24**, 125-150.
- [11] Miller, L.C., Laegreid, W.W., Bono, J.L., Chitko-McKown, C.G. and Fox, J.M. (2004) Interferon Type I Response in Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus-Infected MARC-145 Cells. *Archives of Virology*, **149**, 2453-2463. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0377-9>
- [12] Zhanc, Y., Zhonu, B. and Yanu, Y. (2009) Mechanisms and Regulations of TLRs- and RLRs Mediated Cellular Antiviral Signaling. *Chinese Journal of Cell Biology*, **31**, 453-468.
- [13] Suresh, R. and Mosser, D. (2013) Pattern Recognition Receptors in Innate Immunity, Host Defense, and Immunopathology. *Advances in Physiology Education*, **37**, 284-291. <https://doi.org/10.1152/advan.00058.2013>
- [14] Iwasaki, A. and Medzhitov, R. (2010) Regulation of Adaptive Immunity by the Innate Immunesystem. *Science*, **327**, 291-295. <https://doi.org/10.1126/science.1183021>
- [15] Heil, F., Hemmi, H., Hochrein, H., Ampenberger F., Kirschning, C., Akira, S., Lipford, G., Wagner, H. and Bauer, S. (2004) Species-Specific Recognition of Single-Stranded RNA via Toll-Like Receptor 7 and 8. *Science*, **303**, 1526-1529. <https://doi.org/10.1126/science.1093620>
- [16] Lee, J., Chuang, T.H., Redecke, V., She, L., Pitha, P.M., Carson, D.A., Raz, E. and Cottam, H.B. (2003) Molecular Basis for the Immunostimulatory Activity of Guanine Nucleoside Analogs: Activation of Toll-Like Receptor 7. *Pro-*

- ceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 6646-6651. <https://doi.org/10.1073/pnas.0631696100>
- [17] Heil, F., Ahmad-Nejad, P., Hemmi, H., Hochrein, H., Ampenberger, F., Gellert, T., Dietrich, H., Lipford, G., Takeda, K., Akira, S., Wagner, H. and Bauer, S. (2003) The Toll-Like Receptor 7 (TLR7)-Specific Stimulus Loxoribine Uncovers a Strong Relationship within the TLR7, 8 and 9 Subfamily. *European Journal of Immunology*, **33**, 2987-2997. <https://doi.org/10.1002/eji.200324238>
 - [18] Diebold, S.S., Kaisho, T., Hemmi, H., Akira, S. and Reis e Sousa, C. (2004) Innate Antiviral Responses by Means of TLR7-Mediated Recognition of Single-Stranded RNA. *Science*, **303**, 1529-1531. <https://doi.org/10.1126/science.1093616>
 - [19] Lund, J.M., Alexopoulou, L., Sato, A., Karow, M., Adams, N.C., Gale, N.W., Iwasaki, A. and Flavell, R.A. (2004) Recognition of Single Stranded RNA Viruses by Toll-Like Receptor 7. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 559-603. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400937101>
 - [20] Longhi, M.P., Trumpfheller, C., Idoyaga, J., Caskey, M., Matos, I., Kluger, C., Salazar, A.M., Colonna, M. and Steinman, R.M. (2009) Dendritic Cells Require a Systemic Type I Interferon Response to Mature and Induce CD4⁺ Th1 Immunity with Poly IC as Adjuvant. *Journal of Experimental Medicine*, **206**, 1589-1602. <https://doi.org/10.1084/jem.20090247>
 - [21] Fitzgerald, K.A., McWhirter, S.M., Faia, K.L., Rowe, D.C., Latz, E., Golenbock, D.T., Coyle, A.J., Liao, S.M. and Maniatis, T. (2003) IKK ϵ and TBK1 Are Essential Components of the IRF3 Signaling Pathway. *Nature Immunology*, **4**, 491-496. <https://doi.org/10.1038/ni921>
 - [22] Sharma, S., tenOever, B.R., Grandvaux, N., Zhou, G.P., Lin, R. and Hiscott, J. (2003) Triggering the Interferon Antiviral Response Through an IKK-Related Pathway. *Science*, **300**, 1148-1151. <https://doi.org/10.1126/science.1081315>
 - [23] Ishii, K.J., Kawagoe, T., Koyama, S., Matsui, K., Kumar, H., Kawai, T., Uematsu, S., Takeuchi, O., Takeshita, F., Coban, C. and Akira, S. (2008) TANK-Binding Kinase-1 Delineates Innate and Adaptive Immune Responses to DNA Vaccines. *Nature*, **451**, 725-729. <https://doi.org/10.1038/nature06537>
 - [24] Mansur, D., Smith, G. and Ferguson, B. (2014) Intracellular Sensing of Viral DNA by the Innate Immune System. *Microbes Infect*, **16**, 1002-1012. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2014.09.010>
 - [25] Sun, Y., Han, M., Kim, C., Calvert, J.G. and Yoo, D. (2012) Interplay between Interferon-Mediated Innate Immunity and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Viruses*, **4**, 424-446. <https://doi.org/10.3390/v4040424>
 - [26] Haller, O. and Weber, F. (2007) Pathogenic Viruses: Smart Manipulators of the Interferon System. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **316**, 315-334. https://doi.org/10.1007/978-3-540-71329-6_15
 - [27] Ding, Z., Fang, L., Jing, H., Zeng, S., Wang, D., Liu, L., Zhang, H., Luo, R., Chen, H. and Xiao, S. (2014) Porcine Epidemic Diarrhea Virus Nucleocapsid Protein Antagonizes Beta Interferon Production by Sequestering the Interaction between IRF3 and TBK1. *Journal of Virology*, **88**, 8936-8945. <https://doi.org/10.1128/JVI.00700-14>
 - [28] Hacker, H. and Karin, M. (2006) Regulation and Function of IKK and IKK-Related Kinases. *Science's STKE*, **2006**, re13. <https://doi.org/10.1126/stke.3572006re13>
 - [29] Lin, R., Mamane, Y. and Hiscott, J. (2000) Multiple Regulatory Domains Control IRF-7 Activity in Response to Virus Infection. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**, 34320-34327. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002814200>
 - [30] Lin, R., Heylbroeck, C., Pitha, P. and Hiscott, J. (1998) Virus-Dependent Phosphorylation of the IRF-3 Transcription Factor Regulates Nuclear Translocation, Transactivation Potential, and Proteasome-Mediated Degradation. *Molecular and Cellular Biology*, **18**, 2986-2996. <https://doi.org/10.1128/MCB.18.5.2986>
 - [31] Servant, M., Grandvaux, N., ten Oever, B., Duguay, D., Lin, R. and Hiscott, J. (2003) Identification of the Minimal Phosphoacceptor Site Required for *in Vivo* Activation of Interferon Regulatory Factor 3 in Response to Virus and Double-Stranded RNA. *The Journal of Biological Chemistry*, **278**, 9441-9447. <https://doi.org/10.1074/jbc.M209851200>
 - [32] Clement, J., Bibeau-Poirier, A., Gravel, S., Grandvaux, N., Bonneli, E., Thibault, P., Meloche, S. and Servant, M. (2008) Phosphorylation of IRF-3 on Ser 339 Generates a Hyperactive Form of IRF-3 through Regulation of Dimerization and CBP Association. *Journal of Virology*, **82**, 3984-3996. <https://doi.org/10.1128/JVI.02526-07>
 - [33] Wang, D., Fang, L., Shi, Y., Zhang, H., Gao, L., Peng, G., Chen, H., Li, K. and Xiao, S. (2015) Porcine Epidemic Diarrhea Virus 3C-Like Protease Regulates Its Interferon Antagonism by Cleaving NEMO. *Journal of Virology*, **90**, 2090-2101. <https://doi.org/10.1128/JVI.02514-15>
 - [34] Tohya, Y., Narayanan, K., Kamitani, W., Huang, C., Lokugamage, K. and Makino, S. (2009) Suppression of Host Gene Expression by nsp1 Proteins of Group 2 Bat Coronaviruses. *Journal of Virology*, **83**, 5282-5288. <https://doi.org/10.1128/JVI.02485-08>
 - [35] Kamitani, W., Huang, C., Narayanan, K., Lokugamage, K.G. and Makino, S. (2009) A Two-Pronged Strategy to Suppress Host Protein Synthesis by SARS Coronavirus Nsp1 Protein. *Nature Structural & Molecular Biology*, **16**,

- 1134-1140. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1680>
- [36] Hornung, V., Ellegast, J., Kim, S., Brzózka, K., Jung, A., Kato, H., Poeck, H., Akira, S., Conzelmann, K.K., Schlee, M., Endres, S. and Hartmann, G. (2006) 5'-Triphosphate RNA Is the Ligand for RIG-I. *Science*, **314**, 994-7529. <https://doi.org/10.1126/science.1132505>
- [37] Kato, H., Takeuchi, O., Mikamo-Sato, E., Hirai, R., Kawai, T., Matsushita, K., Hiiragi, A., Dermody, T.S., Fujita, T. and Akira, S. (2008) Length-Dependent Recognition of Double-Stranded Ribonucleic Acids by Retinoic Acid-Inducible Gene-I and Melanoma Differentiation-Associated Gene 5. *The Journal of Experimental Medicine*, **205**, 1601-1610. <https://doi.org/10.1084/jem.20080091>
- [38] Bouvet, M., Debarnot, C., Imbert, I., Selisko, B., Snijder, E.J., Canard, B. and Decroly, E. (2010) *In Vitro* Reconstitution of SARS-Coronavirus mRNA Cap Methylation. *PLOS Pathogens*, **6**, e1000863. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000863>
- [39] Chen, Y., Cai, H., Pan, J., Xiang, N., Tien, P., Ahola, T. and Guo, D. (2009) Functional Screen Reveals SARS Coronavirus Nonstructural Protein nsp14 As a Novel Cap N7 Methyltransferase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 3484-3489. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808790106>
- [40] Decroly, E., Imbert, I., Coutard, B., Bouvet, M., Selisko, B., Alvarez, K., Gorbalenya, A.E., Snijder, E.J. and Canard, B. (2008) Coronavirus Nonstructural Protein 16 Is a cap-0 Binding Enzyme Possessing (nucleoside-2'-O)-methyltransferase Activity. *Journal of Virology*, **82**, 8071-8084. <https://doi.org/10.1128/JVI.00407-08>
- [41] Snijder, E.J., Bredenbeek, P.J., Dobbe, J.C., Thiel, V., Ziebuhr, J., Poon, L.L.M., Guan, Y., Rozanov, M., Spaan, W.J.M. and Gorbalenya, A.E. (2003) Unique and Conserved Features of Genome and Proteome of SARS Coronavirus, an Early Split-Off from the Coronavirus Group 2 Lineage. *Journal of Molecular Biology*, **331**, 991-1004. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(03\)00865-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(03)00865-9)
- [42] van der Hoek, L., Sure, K., Ihorst, G., Stang, A., Pyrc, K., Jebbink, M.F., Petersen, G., Forster, J., Berkhout, B. and Uberla, K. (2005) Croup Is Associated with the Novel Coronavirus NL63. *PLoS Medicine*, **2**, e240. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020240>
- [43] Chen, Z., Wang, Y., Ratia, K., Mesecar, A.D., Wilkinson, K.D. and Baker, S.C. (2007) Proteolytic Processing and Deubiquitinating Activity of Papain-Like Proteases of Human Coronavirus NL63. *Journal of Virology*, **81**, 6007-6018. <https://doi.org/10.1128/JVI.02747-06>
- [44] Devaraj, S.G., Wang, N., Chen, Z., Chen, Z., Tseng, M., Barretto, N., Lin, R., Peters, C.J., Tseng, C.T., Baker, S.C. and Li, K. (2007) Regulation of IRF-3-Dependent Innate Immunity by the Papain-Like Protease Domain of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *The Journal of Biological Chemistry*, **282**, 32208-32221. <https://doi.org/10.1074/jbc.M704870200>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2327-0810, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: amb@hanspub.org