

传染性法氏囊病病毒细胞受体研究进展

李乔木¹, 李娅丽², 赵绪永², 朱礼倩², 田小辉¹, 刘运超¹, 王爱萍^{1*}

(1. 郑州大学 生物工程系, 河南 郑州 450001; 2. 河南省动物免疫学重点实验室, 河南 郑州 450002)

摘要: 综述了国内外 IBDV 细胞受体的研究情况, 概括介绍了近年来的研究进展, 以期对 IBDV 细胞受体的结构和功能研究提供参考。

关键词: 传染性法氏囊病病毒; 细胞受体; N-连接糖蛋白; 表面免疫球蛋白; 鸡热激蛋白 90

中图分类号: S816 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)04-0016-03

传染性法氏囊病病毒(Infectious bursal disease virus, IBDV)是引起鸡传染性法氏囊病(infectious bursal disease, IBD)的病原体, 主要侵害3~6周龄幼龄雏鸡中枢免疫器官——法氏囊, 感染并诱导法氏囊B淋巴细胞凋亡, 引起严重的免疫抑制, 导致免疫失败和其他传染病易感性增加, 对养鸡业造成重大损失^[1~3]。

疫苗免疫是防治传染性法氏囊病的主要方法。但是, 由于IBDV变异快, 新的变异株不断出现, 有时疫苗免疫起不到保护作用, 导致免疫失败^[4]。IBDV感染靶细胞的第一步是病毒粒子的VP2蛋白对靶细胞表面受体的特异性吸附。研究IBDV细胞受体和感染相关分子的特性及其功能, 对于从分子水平阐明IBDV感染与免疫的机制, 摸清病毒与宿主细胞的相互关系, 研制更有效的病毒疫苗、抗病毒药物和诊断试剂, 从而有效预防和控制传染病发生和流行等都具有重要的意义^[5~8]。

国内外研究者对IBDV细胞受体进行了广泛研究。第一篇关于IBDV细胞受体的研究性论文发表于1979年^[9]。此后, 为找到IBDV细胞受体, 研究者做了大量工作, 并取得了重要进展。鉴于此, 对IBDV细胞受体研究进展情况作出综述, 以期对IBDV细胞受体的结构和功能研究提供参考。

1 IBDV细胞受体在宿主鸡体内的分布

Hirai等^[9]发现, IBDV致病毒株主要感染表达有表面免疫球蛋白M(surface immunoglobulin M, SIgM)的B淋巴细胞, 而且感染过程可以被抗IgM抗体所抑制。据此结果推测, IBDV特异性受体存

在于SIgM阳性B淋巴细胞, SIgM可能是IBDV细胞受体。Ogawa等^[10]在此基础上用高致病性毒株OKYM进行病毒与细胞的结合试验, 运用流式细胞术检测病毒与鸡B淋巴母细胞(LSCC-BK3、LSCC-1104-B1)、T淋巴母细胞(MDCC-MSB1、MDCC-RP1)的结合特性, 结果显示, 表达SIgM的LSCC-BK3细胞与IBDV结合率高达90%, 其他3种细胞表面不表达SIgM分子, 几乎不能与IBDV结合。分别用法氏囊、脾脏、胸腺和外周血的淋巴细胞与IBDV发生结合反应, 发现法氏囊淋巴细胞结合率高达94%, 脾脏、胸腺和外周血淋巴细胞结合率为37%、3%和21%。试验结果说明, SIgM分子在IBDV与细胞结合的过程中起重要作用, 但缺乏充分的试验证据来证明SIgM就是IBDV的受体。

2 鸡胚成纤维细胞(chicken embryo fibroblast cells, CEF)和鸡B淋巴细胞表面IBDV受体的分布

Nieper等^[11]运用饱和竞争试验发现, CEF细胞存在IBDV血清1型和2型共同的结合位点和各自不同血清特异型的受体结合位点, 据此推测, CEF可能存在至少3种IBDV受体。B细胞表面同样存在IBDV 2个血清型的共同结合位点, 和特异性的血清2型受体结合位点, 通过病毒覆盖蛋白印迹分析试验(virus overlay protein blotting assay, VOPBA)发现, 含有2种血清型共同结合位点的蛋白分子质量为40kD、46kD, 分别表达于CEF和鸡B细胞。Setiyona等^[12]将IBDV高致病力毒株在B淋巴细胞系LSCC-BK3增殖后, 通过VOPBA试验发现, 该病毒能与LSCC-BK3表达的70kD、80kD

收稿日期: 2008-11-03

作者简介: 李乔木(1982-), 男, 河南邓州人, 在读硕士研究生, 研究方向: 病原微生物分子免疫学。

通讯作者: 王爱萍(1970-), 女, 青海西宁人, 副教授, 硕士, 主要从事生物技术研究工作。

和 110kD 蛋白结合。Setiyona 等^[13] 制备了抑制 IBDV 结合 LSCC-BK3 细胞的 3 株单克隆抗体, 通过 Western-Blot 试验发现, 该抗体都能与 110kD 的蛋白结合。推测此蛋白可能是 IBDV 感染 LSCC-BK3 的结合受体。

3 IBDV 受体在 Vero 细胞表面的分布

Yip 等^[14] 发现, 真核表达的 IBDV 超强毒株 (HK46) 和弱毒株 (D78) VP2 蛋白都能结合 Vero 细胞, 但是该结合特性都能被弱毒株 (D78) 所阻断。可见超强毒株和弱毒株与 Vero 细胞结合同一位点。但是超强毒株 (HK46) 不能在 Vero 细胞上增殖, 可见仅仅靠 IBDV 与 Vero 细胞的结合并不能足以介导感染的发生, 其他的感染相关分子起到非常重要的作用。

4 IBDV 细胞受体的化学性质

细胞表面任何成分, 如膜表面蛋白质、多糖和脂类均可能成为病毒的靶分子, 帮助病毒吸附和侵入细胞。为充分了解 IBDV 受体的化学特性, Ogawa 等^[10] 分别用 4 种蛋白酶(胰蛋白酶、糜蛋白酶、蛋白酶 K、链霉蛋白酶)和 3 种磷脂酶(A2、C、D)、6 种糖苷酶作用 LSCC-BK3 细胞。结果显示, 蛋白酶明显减少病毒与细胞的结合, 磷脂酶和糖苷酶对病毒与细胞的结合没有影响。将细胞与 N-连接糖基化的抑制剂(衣霉素、苦马豆碱)反应后, 病毒与细胞结合率明显降低, 甚至衣霉素还减少了感染细胞的数量, 因为衣霉素不仅抑制 N-连接糖基化过程, 同时还对蛋白质合成有影响。这充分证明, IBDV 受体是 N-连接的糖蛋白。用糖苷酶处理细胞, 除去糖蛋白中的低聚糖, 并不影响病毒与细胞的结合, 说明介导病毒与细胞结合的成分是糖蛋白中的蛋白部分。糖基化抑制剂之所以抑制病毒与细胞结合, 是因为抑制剂还会干扰糖蛋白向细胞膜的定位输出, 从而减少了细胞表面受体的表达。

VP2 蛋白体外表达后可自发形成亚病毒颗粒, 并且所形成的亚病毒颗粒保留了结合宿主细胞的能力。据此, Lin 等^[15] 将亚病毒颗粒结合到镍柱上后, 把 DF-1 细胞裂解液过柱, 分离到一种与亚病毒颗粒能够特异结合的蛋白。经质谱鉴定, 这种蛋白为鸡热休克蛋白 90 (chicken heat shock protein 90, cHsp90)。病毒覆盖蛋白结合试验证明, cHsp90 能够与 IBDV 结合。重组 Hsp90 和 Hsp90 单抗可抑

制病毒感染 DF-1。这些试验结果表明, cHsp90 在 IBDV 感染 DF-1 过程中起重要作用, 可能为 IBDV 受体复合物成分之一。

5 小结

过去针对抗病毒药物的研究多集中在 DNA 复制酶或其他病毒相关酶上。最近发现, 针对 HIV-1 融合蛋白及流感病毒 NA 蛋白的抑制剂能够起到抗病毒作用^[16, 17], 说明病毒入侵和脱壳过程可以作为抗病毒药物作用的靶位点。病毒细胞受体是病毒入侵细胞的门户, 以细胞受体作为抗病毒药物作用的靶位点, 是抗病毒药物研究的新思路。

虽然近年来对 IBDV 细胞受体的研究取得了一定进展, 但仍没有找到一种确定的病毒受体, 对病毒结合及进入宿主细胞的过程仍然知之甚少。研究 IBDV 细胞受体的复杂性在于 IBDV 有多种细胞受体。不同的毒株, 不同的宿主细胞, 可能是不同的受体发挥作用, 甚至是同一种宿主细胞上也可能存在不止一种受体。此外, 病毒与细胞的相互作用是一个多步骤、涉及多种分子的复杂过程。从目前取得的研究结果来看, IBDV 细胞受体不是单一成分, 可能有多个分子在病毒的感染过程种发挥不同的作用, 当这些分子共同存在时, 病毒才能完成对宿主细胞的感染。这增加了寻找 IBDV 受体细胞的难度。

由于病毒细胞受体绝大多数是蛋白质, 因此, 研究病毒细胞受体的方法大体上就是研究蛋白质相互作用的方法。近年来, 分子生物学和蛋白质组学技术的发展, 特别是研究蛋白质相互作用的相关技术的发展, 为 IBDV 细胞受体研究提供了更多、更有效的现代生物学技术途径, 如噬菌体表面展示技术 (phage surface display techniques)、cDNA 文库技术、酵母双杂交系统 (yeast two-hybrid system) 等。

参考文献:

- [1] Rodríguez Lecompte J C, Niño-Fong R, Lopes A, *et al.* Infectious bursal disease virus (IBDV) induces apoptosis in chicken B cells [J]. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2005, 28(4): 321—337.
- [2] Berg T P, Gonze M, Morales D, *et al.* Acute infectious bursal disease in poultry: immunological and molecular basis of antigenicity of a highly virulent strain [J]. *Avian Pathol*, 2000, 29: 175—190.
- [3] 杨明凡, 王岩, 张素梅, 等. 传染性法氏囊病毒 HN 株的分离鉴定及应用免疫荧光检测 IBDV [J]. *河南农业科学*, 2008(1): 99—101.

(下转第 21 页)

其 F_1 代具有一定的杂种优势, 但表现不明显; 第一果枝节位、铃重、整齐度等性状的平均显性度为负值, 其后代的杂种优势为负向效应, 偏向于数值较小的亲本。

3) 铃重、衣分、绒长等性状的广义遗传率(h_B^2)较高, 狭义遗传率(h_N^2)也较高, 对这些性状可在杂交后代的早期世代开始连续进行选择, 会有较好的选择效果; 而单株结铃数、单株理论产量、整齐度等性状的广义遗传率较高, 狭义遗传率相对较低, 这些性状则要在杂交后代的晚期世代进行选择, 并注意扩大群体, 才能收到较好的效果。

4) 在杂交育种中, 选择双亲最少基因对数(K)较小的组合, 有利于降低育种的盲目性。若选择双亲最少基因对数较大的组合, 由于起点较低, 目标的出现不集中, 就增加了育种的难度。

5) 彩色棉纤维与棉花的形态性状、产量性状以及纤维品质性状间的遗传关系及海陆杂种基因位点间可能存在的互作效应, 还有待于进一步研究探讨。

参考文献:

- [1] 李源和. 彩色棉在挑战——中国首次彩色棉研讨会论文集[Q]. 北京: 金盾出版社, 2007.
- [2] 邓福军, 汤振江, 张哲锋, 等. 彩色棉的科研现状与发展前景[Q] //中国棉花学会 2004 年会议论文汇编. 北京: 中国农业出版社, 2004: 114—127.
- [3] 邱新棉. 天然彩色棉研究与发展前景[J]. 棉花学报, 2004, 16(4): 249—254.
- [4] 汤寿伍, 赵天鹏, 张振南. 新疆天然彩色棉的研究现状与应用[J]. 中国棉花, 2005, 32(5): 4—5.
- [5] 李红, 李哲, 崔秀珍, 等. 棕色棉与长绒陆地棉杂交后代遗传参数估计[J]. 河南农业科学, 2008(11): 47—49, 54.
- [6] 徐崇志, 李青, 曹新川. 彩色陆地棉与海岛棉种间杂种优势及其主要性状的遗传分析[J]. 中国棉花, 2003, 30(6): 17—19.
- [7] 李哲, 杨金玉, 崔秀珍. 海陆杂交种纤维品质性状应用研究[J]. 中国棉花, 2007, 34(10): 13—15.
- [8] 杜雄明, 刘国强, 周怀勤. 彩色棉种质鉴定及新品种选育[J]. 中国农学通报, 1997, 13(6): 47—48.
- [9] 朱军. 遗传模型分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 56—255.
- [10] 董合林. 特色棉优质高产栽培技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2007: 67—82.

(上接第 17 页)

- [4] 李学伍, 肖治军, 张改平, 等. 鸡传染性法氏囊病疫苗毒株的生物学特性研究[J]. 河南农业科学, 2003(1): 40—42.
- [5] Agrez M V, Shafren D R, Gu X, *et al.* Integrin $\alpha v \beta 6$ enhances coxsackievirus B1 lytic infection of human colon cancer cells[J]. Virology, 1997, 239: 71—77.
- [6] Bergelson J M, Cunningham J A, Droguett G, *et al.* Isolation of a common receptor for coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5[J]. Science, 1997, 275: 1320—1323.
- [7] Berger E A, Murphy P M, Farber J M. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism and disease[J]. Annual Review of Immunology, 1999, 17: 657—700.
- [8] Bewley M C, Springer K, Zhang Y B, *et al.* Structural analysis of the mechanism of adenovirus binding to its human cellular receptor, CAR[J]. Science, 1999, 286: 1579—1583.
- [9] Hirai K, Calnek B W. *In vitro* replication of infectious bursal disease virus in established lymphoid cell lines and chicken B lymphocytes[J]. Infect Immun, 1979, 25(3): 964—970.
- [10] Ogawa M, Yamaguchi T, Setiyono A, *et al.* Some characteristics of a cellular receptor for virulent infectious bursal disease virus by using flow cytometry[J]. Arch Virology, 1998, 143(12): 2327—2341.
- [11] Nieper H, Muller H. Susceptibility of chicken lymphoid cells to infectious bursal disease virus does not correlate with the presence of specific binding sites[J]. J Gen Virol, 1996, 77: 1229—1237.
- [12] Setiyona A, Hayashi T, Yanaguchi T, *et al.* Detection of cell membrane proteins that interact with virulent infectious bursal disease virus[J]. J Vet Med Sci, 2001, 63(2): 219—221.
- [13] Setiyona A, Yanaguchi T, Ogawa M, *et al.* Isolation of monoclonal antibodies that inhibit the binding of infectious bursal disease virus to LSCC-BK3 cells[J]. J Vet Med Sci, 2001, 63(2): 215—218.
- [14] Yip C W, Yeung Y S, Ma C M, *et al.* Demonstration of receptor binding properties of VP2 of very virulent strain infectious bursal disease virus on vero cells[J]. Virus Res, 2006, 123(1): 50—56.
- [15] Lin T W, Lo C W, Lai S Y, *et al.* Chicken heat shock protein 90 is a component of the putative cellular receptor complex of infectious bursal disease virus[J]. J Virology, 2007, 81(16): 8730—8741.
- [16] Sia S K, Kim P S. Protein grafting of an HIV-1-inhibiting epitope[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(17): 9756—9761.
- [17] Smith B J, McKimm-Breshkin J L, McDonald M, *et al.* Structural studies of the resistance of influenza virus neuraminidase to inhibitors[J]. J Med Chem, 2002, 45(11): 2207—2212.