

鱼类抗弹状病毒感染的免疫机制

席兴字*, 孙寅玮

(新乡学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 弹状病毒属于单链 RNA 病毒, 是威胁野生和养殖鱼类的重要致病因子。简要介绍了鱼类应对弹状病毒感染的天然性免疫和适应性免疫机制, 以及病毒逃避免疫防御策略, 以阐明鱼类与弹状病毒相互作用机制, 为开发防御病毒感染的新疫苗和治疗措施提供参考。

关键词: 弹状病毒; 天然性免疫; 适应性免疫; 干扰素; 中和抗体

中图分类号: S941.41 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)06-0013-03

Fish Immune Mechanisms in Response to Rhabdoviruses Infection

XI Xing-zi*, SUN Yin-wei

(Xinxiang University, Xinxiang 453003, China)

Abstract: Rhabdoviruses belong to the single-stranded RNA virus family and are important pathogens threatening to wild and cultured fish. Herein, the innate and adaptive immune mechanisms that fish mounted in response to rhabdoviruses infection were summarized, as well as the immune evasion strategies of rhabdoviruses. Elucidating the interaction mechanisms of host-virus will be helpful for the development of novel vaccines and therapeutics.

Key words: rhabdoviruses; innate immunity; adaptive immunity; interferon; neutralizing antibodies

弹状病毒科是一类单链 RNA 病毒, 包括传染性造血组织坏死症病毒 (infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV)、病毒性出血性败血症病毒 (viral hemorrhagic septicemia virus, VHSV)、牙鲆弹状病毒 (hirame rhabdovirus, HRV)、鳢弹状病毒 (snakehead rhabdovirus, SRV) 和鲤春病毒血症病毒 (spring viremia of carp virus, SVCV) 等^[1]。IHNV 主要感染鲑鱼和鳟鱼; SVCV 主要感染鲤科鱼类; VHSV 病毒宿主范围很广, 可感染虹鳟、褐鳟、茴鱼、白鲑、白斑狗鱼和大菱鲆等。弹状病毒是细胞裂解性病毒, 执行“hit and run”感染策略, 鱼类感染该类病毒后的典型特征是出血性败血症, 影响多种器官功能, 症状如眼球突出、变黑, 腹部膨胀, 肛门处拖着不透明或棕褐色的假管型黏液粪便、皮下出血等。鱼类感染弹状病毒后死亡率极高, 而幸存

者体内形成长效免疫机制, 能够抵御该病毒科多种病毒感染, 这种现象说明, 鱼类存在抗病毒感染的天然性和适应性免疫机制。介绍了鱼类应对弹状病毒感染的天然性免疫和适应性免疫机制, 以及病毒逃避免疫防御策略。以阐明鱼类和弹状病毒相互作用及其共进化的分子机制, 为开发防御病毒感染的新疫苗和治疗措施提供参考。

1 鱼类对弹状病毒的识别机制

在哺乳动物中, 模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 如 Toll-样受体 (TLR) 和 RIG-样受体 (RLR) 识别病原体相关的分子模式 (pathogen associated molecular patterns, PAMPs), 进而通过 PRRs 介导的信号传导机制, 激活天然性免疫效应分子, 如干扰素 (IFN) 等。IFN 在调节适

收稿日期: 2013-01-20

基金项目: 河南省教育厅自然科学与研究计划项目 (2011B180031)

作者简介: 席兴字 (1970-), 女, 河南延津人, 讲师, 硕士, 主要从事动物生理生化研究。* 为通讯作者。

E-mail: xingzixi2003@sina.com

应性免疫和抑制病毒复制等多方面发挥作用。硬骨鱼中有抗病毒的 TLRs 家族蛋白,包括 TLR3、TLR7、TLR8,以及能识别、结合多种 RNA 分子的新型 TLR22^[2]。但是,大多数鱼类缺乏识别病毒 G 蛋白的 TLR4 分子,或者 TLR4 分子出现多样性。然而在虹鳟鱼中研究表明^[3],弹状病毒的 G 蛋白能激发 IFN 的合成。这种现象说明,鱼类识别病毒糖蛋白的天然性免疫能力与哺乳动物具有相似性,但识别的分子机制仍需进一步研究。其他 PRRs 分子如 RIG-1、MDA5 和 LGP2 等在鱼细胞过表达亦能激活 IFN 系统,提示与抵抗弹状病毒感染有关。

2 鱼类对弹状病毒的自然性免疫机制

由于模式鱼类基因组研究的快速发展,已经鉴定了一些编码鱼类细胞因子、化学介质及免疫效应因子的基因,包括 I 型和 II 型 IFN 的基因。I 型 IFN 在多种组织细胞中表达,而 II 型 IFN 仅在造血组织细胞中表达。研究表明^[4],提前激活 IFN 系统能抑制鱼类弹状病毒的复制。从感染 VHSV、IHNV 或 SVCV 鱼血清中提取出有生物活性的 IFN,并且鱼感染病毒后存在 I 型和 II 型 IFN 基因上调表达现象^[4]。重组的 IFN 亦能抑制病毒复制、激活 IFN 诱导基因的表达,但重组的 IFN γ 不能提高 SVCV 感染的斑马鱼成活率^[5]。因此,弹状病毒是否直接受到这类细胞因子的抑制尚需提出质疑。

病毒感染或 G 蛋白疫苗诱导 IFN 基因及其他新型抗病毒基因的表达,在脊椎动物中是一个普遍现象^[6]。但在鱼类,弹状病毒感染诱导 IFN 基因上调表达,可能仅与组织中病毒感染量有关,并不一定起到保护作用。可能是由于病毒复制的速度快于天然性免疫介质调动的速度,病毒在入侵后 24 h 内开始复制,如果宿主依赖合成新的蛋白质(如 IFN)去抵御病毒感染,在这个有限时间内是不可能完成的。因此,宿主体内可能存在组成型或其他天然性免疫屏障。研究发现^[7],鳟鱼对 VHSV 病毒的防御与病毒在鱼鳍组织的体外复制有关联,表明鱼类表皮组织是重要抗病毒防御系统。宿主-病毒在病毒侵入点相互拮抗,有助于限制病毒感染后的内在扩散,并启动机体警报系统。

3 鱼类对弹状病毒的体液免疫机制

病毒感染或疫苗诱导产生的中和抗体是长期适应性免疫的重要组成部分。含有中和抗体的血清能保护鳟鱼幼苗、被动防御 IHNV 和 VHSV 病毒,即使抗体的滴度降低到不可检测水平^[8]。多数研究集中在中和抗体的保护作用方面,而非中和抗体和其

他形式的抗体亦可能发挥作用。病毒的中和作用是补体依赖性,但补体辅助病毒中和的确切机制仍不清楚。在冷水鱼中,中和抗体在病毒感染的急性阶段不能发挥作用,因为中和抗体在病毒感染几周后才能检测到。对弱毒或低毒力病毒株的研究发现^[9],病毒复制达到一定的阈值才能激发鱼类产生保护性抗体。目前,已知硬骨鱼中有 IgM、IgD 及 IgT 等多种免疫球蛋白。受到抗原刺激后,鱼类 B 淋巴细胞表达 IgM。但是,IgT 的表达才是黏液免疫反应的关键^[10]。然而,迄今为止,有关 IgT 在弹状病毒感染过程中的作用尚未见报道。此外,鱼类补体系统的复杂性逐渐被揭示^[11],这将有助于阐明何种补体成分参与病毒中和反应。

4 鱼类对弹状病毒的细胞免疫机制

尽管含有病毒 G 蛋白基因的 DNA 疫苗能够激发鱼类产生保护性中和抗体,但在中和抗体检出之前,人们观察到鱼类中还存在特异性的细胞免疫反应。硬骨鱼中含有许多 T 细胞相关基因,包括编码 T 细胞受体的基因、集落刺激因子及其他细胞因子的基因^[12]。弹状病毒感染或注射 G 蛋白 DNA 疫苗后,许多 T 细胞受体相关基因表达上调,且研究表明 T 细胞抗原决定簇位于病毒 G 蛋白^[13]。在鲑鱼和鲤鱼中,存在非特异性细胞毒性细胞(NCC)和自然杀伤细胞(NK),它们能够识别和破坏病毒感染的变异细胞。Somamoto 等^[14]研究表明,从鲤鱼外周血细胞衍生的淋巴细胞对感染 IHNV 病毒的细胞表现出特异性细胞毒性效应。另有报道^[15],从感染 VHSV 病毒的虹鳟鱼提取的外周血淋巴细胞对 VHSV 病毒感染的靶细胞亦表现出极强的细胞毒性效应。以上这些研究表明,宿主在应对病毒感染时细胞免疫发挥作用。

5 弹状病毒逃脱免疫监视的机制

鱼类在与病毒作斗争过程中进化产生抗病毒感染的免疫机制,然而病毒也在不断进化形成多种机制突破宿主免疫屏障,破坏宿主细胞结构,获得优先转录和翻译病毒基因的能力。病毒与宿主细胞存在相互拮抗的共进化关系。尽管 IFN 能抑制病毒复制,且病毒感染后可检测到 IFN 产生,但是却不能够抑制强毒力弹状病毒的复制,表明病毒可能直接干扰关键免疫效应因子的功能(包括 IFN)从而逃脱免疫监视。研究发现^[16],病毒可能干扰宿主细胞凋亡、抑制宿主基因转录,这种现象称为“宿主细胞基因关闭”(host-cell shut off)。关闭宿主细胞基因有利于增加病毒基因转录和翻译所需原料,同时减少

产生抗病毒宿主蛋白。有研究表明^[17-18],弹状病毒的M蛋白能够介导“宿主细胞基因关闭”,NV蛋白可能具有延迟宿主细胞凋亡、抑制宿主细胞IFN系统的作用。延迟或阻止宿主细胞凋亡意味着病毒获得更长的复制时间,是病毒在进化中产生的一种策略。Ammayappan等^[19]研究发现,缺乏NV蛋白的重组VHSV病毒诱导细胞凋亡的速度显著快于野生型。Choi等报道^[20],用缺失NV基因的重组IHNV病毒感染虹鳟鱼,IFN相关基因的转录显著提高,产生高水平、有生物学活性的IFN。有些病毒可能通过G蛋白突变使T淋巴细胞失去抗原识别位点^[21]。因此,不同的病毒进化产生不同的策略以避免免疫监视。

6 小结

弹状病毒对渔业生产危害极大,深入研究病毒与宿主免疫系统的相互作用机制可能为病毒的防制提供新策略。近几年,鱼类基因组学研究取得较大进展,这将促进人们在功能水平上研究鱼类免疫系统相关基因。此外,人们已经鉴定了一些病毒逃避免疫监视的关键因子,比如M蛋白介导宿主细胞基因表达关闭等^[17-18]。但是,病毒逃脱免疫监视的机制是否具有保守性,是否还存在其他新的逃避机制等,这些问题尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Crane M, Hyatt A. Viruses of fish: an overview of significant pathogens[J]. *Viruses*, 2011, 3(11): 2025-2046.
- [2] Purcell M K, Laing K J, Winton J R. Immunity to fish rhabdoviruses[J]. *Viruses*, 2012, 4(1): 140-166.
- [3] Verjan N, Ooi E L, Nochi T, *et al.* A soluble nonglycosylated recombinant infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) G-protein induces IFNs in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2008, 25(1/2): 170-180.
- [4] De Kinkelin P, Dorson M, Hattenberger-Baudouy A M. Interferon synthesis in trout and carp after viral infection[J]. *Dev Comp Immunol*, 1982, 2: 167-174.
- [5] Lopez-Munoz A, Roca F J, Meseguer J, *et al.* New insights into the evolution of IFNs: Zebrafish group II IFNs induce a rapid and transient expression of IFN-dependent genes and display powerful antiviral activities[J]. *J Immunol*, 2009, 182(6): 3440-3449.
- [6] Byon J Y, Ohira T, Hirano I, *et al.* Use of a cDNA microarray to study immunity against viral hemorrhagic septicemia (VHS) in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) following DNA vaccination[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2005, 18(2): 135-147.
- [7] Harmache A, LeBerre M, Droineau S, *et al.* Bioluminescence imaging of live infected salmonids reveals that the fin bases are the major portal of entry for Novirhabdovirus [J]. *J Virol*, 2006, 80(7): 3655-3659.
- [8] Hershberger P K, Gregg J L, Grady C A, *et al.* Passive immunization of Pacific herring *Clupea pallasii* against viral hemorrhagic septicemia[J]. *J Aquat Anim Health*, 2011, 23(3): 140-147.
- [9] Kurath G, Garver K A, LaPatra S E. Resistance and protective immunity in Redfish Lake sockeye salmon exposed to M type infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) [J]. *J Aquat Anim Health*, 2010, 22(2): 129-139.
- [10] Zhang Y A, Salinas I, Li J, *et al.* IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(9): 827-835.
- [11] Nakao M, Tsujikura M, Ichiki S, *et al.* The complement system in teleost fish: Progress of post-homolog-hunting researches[J]. *Dev Comp Immunol*, 2011, 35(12): 1296-1308.
- [12] Laing K J, Hansen J D. Fish T cells: Recent advances through genomics [J]. *Dev Comp Immunol*, 2011, 35(125): 1282-1295.
- [13] Miller K, Traxler G, Kaukinen K, *et al.* Salmonid host response to infectious hematopoietic necrosis (IHNV) virus: Cellular receptors, viral control, and novel pathways of defense[J]. *Aquaculture*, 2007, 272: S217-S237.
- [14] Somamoto T, Nakanishi T, Okamoto N. Role of specific cell-mediated cytotoxicity in protecting fish from viral infections[J]. *Virology*, 2002, 297(1): 120-127.
- [15] Utke K, Bergmann S, Lorenzen N, *et al.* Cell-mediated cytotoxicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, infected with viral haemorrhagic septicemia virus [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2007, 22(3): 182-196.
- [16] Ahmed M, Lyles D S. Effect of vesicular stomatitis virus matrix protein on transcription directed by host RNA polymerases I, II, and III [J]. *J Virol*, 1998, 72(10): 8413-8419.
- [17] Ammayappan A, Vakharia V N. Nonvirion protein of novirhabdovirus suppresses apoptosis at the early stage of virus infection[J]. *J Virol*, 2011, 85(16): 8393-8402.
- [18] Chiou P P, Kim C H, Ormonde P. Infectious hematopoietic necrosis virus matrix protein inhibits host-directed gene expression and induces morphological changes of apoptosis in cell cultures[J]. *J Virol*, 2000, 74(16): 7619-7627.
- [19] Ammayappan A, Vakharia V N. Nonvirion protein of novirhabdovirus suppresses apoptosis at the early stage of virus infection[J]. *J Virol*, 2011, 85(16): 8393-8402.
- [20] Choi M K, Moon C H, Ko M S, *et al.* A nuclear localization of the infectious hematopoietic necrosis virus NV protein is necessary for optimal viral growth[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22362.
- [21] Troyer R M, LaPatra S E, Kurath G. Genetic analyses reveal unusually high diversity of infectious hematopoietic necrosis virus in rainbow trout aquaculture[J]. *J Gen Virol*, 2000, 81(12): 2823-2832.