

·综述·

动物病毒受体阻断剂的研究进展

陆春玲^{1,2}, 黄 健², 李 贇¹

(1. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要:病毒进入宿主体后,病毒粘附蛋白(VAP)首先与宿主靶细胞膜特异受体结合,被吸附到宿主敏感细胞上,然后通过膜融合等方式侵入细胞中,完成脱囊膜或脱壳并进行复制、转录及装配等增殖过程。许多研究通过不同的途径试图寻找可以阻断病毒吸附的抑制剂,已取得了重要进展。近年来国内外文献表明,硫酸乙酰肝素(HS)是细胞膜上许多病毒的特异受体或者辅助受体,用一些可溶性的肝素,如肝素钠、硫酸软骨素可以特异阻断病毒的吸附和侵入。另外,具有糖结合活性的植物凝集素及一些糖类衍生物可以与细胞膜上的某些病毒特异受体糖蛋白结合,从而不同程度地抑制病毒和宿主细胞的结合。本文对该领域研究成果作一综述,旨在为今后对水产动物病毒阻断剂的研究提供参考。

关键词:动物病毒;细胞受体;肝素;植物凝集素;单克隆抗体;阻断剂

中图分类号: Q855.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2004)01-0082-07

病毒是在细胞内寄生的有机体,多数病毒在宿主体内增殖的过程包括吸附、侵入、脱壳,最后装配成一个新的病毒粒子并且释放到细胞外,继续新一轮增殖。

阻断病毒增殖目前主要的途径有:(1)利用一些糖类衍生物,这些衍生物如硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素、蛋白聚糖、甘露糖-6-磷酸等,可以抑制病毒与宿主细胞的结合;(2)通过单抗或多抗抑制病毒与宿主细胞的结合,这些包括血细胞、受体蛋白或病毒的单抗;(3)人工合成或半合成的寡糖蛋白或糖脂,研究认为多数的病毒受体或辅助受体为含有唾液酸的N-糖苷键的糖蛋白或糖脂。另外,使用抑制酶如逆转录酶(RT)、蛋白酶、葡萄糖苷酶,获得一些基因产物或表达产物以阻断病毒增殖过程中的某一个环节如病毒和细胞的结合或者病毒的复制等途径都可以不同程度地抑制病毒感染。其中通过寻找抑制病毒和宿主细胞结合的抑制剂是阻断病毒感染的第一步,有关这方面的研究对了解病毒感染机制、综合防治以及病毒的分类都有十分重要的意义。

早在20世纪50年代就有了这方面的研究,但没有引起人们的重视。直到20世纪80年代,国外关于这方面的研究才逐渐成为病毒学研究的一个热点,但主要集中于人类或畜牧类病毒,如单纯疱疹病毒、口蹄疫病毒和人类免疫缺陷病毒,而我国关于这方面的研究,特别是在水产动物病毒方面却鲜有报道。当前,我国水产养殖业上暴发性病毒病尤为严重,特别是对虾和贝类病毒病,给养殖业带来巨大的经济损失,引起了许多专家的重视。人们利用现代分子生物学技术对病毒病的致病机理或基因序列进行深入的研究,为了对病

毒病有充分的认识,在此基础上达到最终防治的目的。本文旨在对水产动物病毒阻断剂的探索和研究提供参考依据。

1 病毒-细胞受体相互作用的机制

目前有关病毒受体阻断剂的研究,主要是根据宿主细胞或病毒本身的特性以及病毒和靶细胞受体结合的一些步骤来进行的,因此充分了解有关病毒-细胞受体的作用机制以及二者的本质特性对寻找这一抑制剂是有必要的。

吸附和侵入是一个连续的过程。病毒吸附于细胞表面上后,导致了病毒囊膜蛋白构象的变化,然后触发了病毒和辅助受体的相互作用或发生病毒的吞吞,并引起质膜的构象变化,质膜的构象变化为膜融合传递能量^[1]。

一般认为,多数病毒吸附分两步进行^[2]。首先,病毒与细胞以静电引力结合,这种吸附是非特异性的,也就是说病毒可以在细胞表面任何部位吸附,而且可逆。病毒吸附的第二阶段,是不可逆的结合。此时,病毒蛋白(抗受体)与靶细胞膜表面特定蛋白(受体)特异性结合。某些结构复杂的病毒,如痘病毒和疱疹病毒,具有多个抗受体蛋白分子,而每个抗受体蛋白分子又可以有几个不同的区域,每个区域可与细胞表面的不同受体结合。某些病毒一经吸附到细胞表面就不再解脱出来;而另一些病毒则进入了不可逆阶段后仍然可以从细胞中分离出来,比如正粘病毒和副粘病毒科。

目前发现病毒侵入细胞有3种方式:①病毒直接转入胞浆;②细胞吞饮病毒;③病毒囊膜蛋白和细胞膜融合。无囊膜蛋白的病毒多以第②种方式侵入,而有囊膜蛋白的病毒则

收稿日期:2003-06-24; 修订日期:2003-08-19.

基金项目:国家重点基础研究规划项目课题资助(G1999012012).

作者简介:陆春玲(1979-),女,硕士研究生,主要从事病毒分子生物学研究. E-mail: sincerous@sohu.com.cn

通讯作者:黄 健. E-mail: aqudis@public.qd.sd.cn

多以第③种方式进入宿主细胞,如正粘病毒(orthomyxovirus)、副粘病毒(paramyxovirus)、弹状病毒(rhabdovirus)、逆转录病毒(retrovirus)及甲病毒科,其囊膜上血凝素(HA)蛋白在靠近胞膜受体时,HA分子开始折叠,并同邻近2个HA分子共同形成三合体,然后和膜上受体结合^[2]。

还应该指出的是,病毒和受体并不是一一对应的绝对关系,病毒在不同的组织和不同的宿主可能利用不同的受体;越来越多的研究表明,很多病毒粒子在同一细胞上可能有2个或2个以上的受体起作用,病毒首先是和膜上第一受体结合,使病毒黏附于靶细胞表面,然后才和第2受体结合并进行病毒成分的运输,在囊膜病毒,这称之为黏附和融合(图1)^[3]。如HIV-1,有研究认为HIV-1和CD4细胞上的gp120结合,gp120是gp160被蛋白酶剪切的产物之一^[3]。近年来,人们已经发现膜上一些趋化因子的受体作为有些病毒的辅助受体对病毒黏附蛋白和膜上受体的融合是必要的^[4-5]。

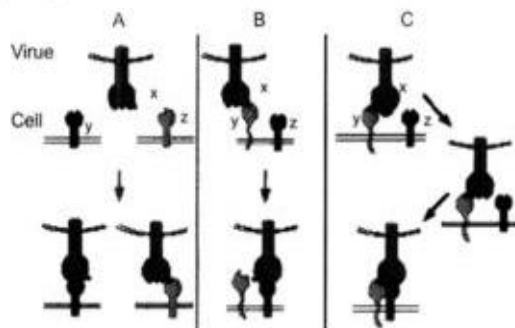


图1 病毒粒子和靶细胞膜上受体的相互作用^[3]

Fig. 1 Attachment of virus particles on cell surface molecules^[3]

(A) 病毒粘附蛋白(x)和膜上初步受体(y和z)直接地高度亲和吸附。这里的粘附蛋白有两个受体结合位点,以便和表达于不同细胞上的替补受体(alternative receptors)结合。如:HIV-1和CD4。

(B) 病毒粒子通过黏附和靶细胞上的前受体分子(y)结合被吸附上,随后是和第一受体分子(z)的高度亲和结合。

(C) 粘附蛋白和受体(y)的高度亲和结合诱导构象的变化,然后导致了辅助受体结合(z)位点的暴露,为下一步的结合提供空间。

(A) Direct high affinity binding of a viral attachment protein (VAP) (x) to primary receptors (y and z). The VAP depicted here has two receptor-binding sites, which allows it to attach to alternative receptors, expressed on different cell types.

(B) Absorption of virus particles to the target cell surface by binding of the VAP to 'pre-receptor' molecules (Y), followed by high affinity binding to a primary receptor molecule (Z).

(C) High affinity binding of a VAP to a receptor (X) induces conformational changes leading to the exposure of binding sites for a co-receptor (Z).

2 病毒受体(viral receptors)和病毒粘附蛋白(viral attach-

ment protein, VAPs)的本质

2.1 病毒受体(viral receptors)的本质

病毒受体是指在细胞内或细胞膜表面可以特异地与病毒结合,介导病毒进入宿主细胞并促使病毒感染的一类糖蛋白或蛋白质大分子;其功能是识别细胞内外的病毒粒子并与其结合。受体不仅决定病毒感染的宿主范围及其组织特异性,还影响病毒进入细胞后的某些活动^[6-7]。对有关病毒受体的研究一直是病毒病研究的热点,而且发展极其迅速。到目前为止,研究得比较透彻的病毒受体有30多种,虽然多为单个或多个分子的复合体,但都是蛋白聚糖、糖脂或脂、糖蛋白。

2.1.1 蛋白聚糖(proteoglycan) 存在于动物细胞膜的病毒受体。由一个蛋白质核心与一个或多个聚葡萄糖共价联系,其中聚糖是受体部分。

2.1.2 脂类(lipid) 动物细胞膜脂质层丰富,脂质可能起到受体的作用,比如仙台病毒受体为神经节苷脂^[5]。Flint等^[8]报道,可溶性截短丙型肝炎病毒(HCV)的E2蛋白(E2-661)能特异地与细胞表达的人CD81结合,证明了CD81是HCV的特异受体。

2.1.3 糖蛋白(glycoprotein) 迄今的病毒受体研究中,发现受体多为糖蛋白。糖蛋白可以为多种糖基,并被蛋白酶修饰,从而表现出多样性。很多观点认为受体蛋白的糖基化对病毒与宿主细胞的结合是必需的,这种糖蛋白在介导膜融合反应中发挥重要作用。普遍的观点认为,病毒糖蛋白是一种亚稳的实体,它可以转变为一种“融合态”的构象以利于同细胞受体结合,或内吞入酸性细胞中^[9]。Juan等^[9]报道了登革热病毒4(DV4)可以与C6/36上的2种蛋白成分相结合,并用胰蛋白酶处理细胞可以抑制结合,而用磷酸钠和神经氨酸酶处理则无此作用,2种蛋白的单克隆抗体也可以抑制病毒与蛋白的结合。

2.2 病毒粘附蛋白(viral attachment protein, VAPs)

位于病毒粒子表面(囊膜或衣壳)的病毒糖蛋白为病毒粘附蛋白(viral attachment protein, VAPs),它是病毒和靶细胞结合的部分,也称为结合蛋白,对宿主具有免疫性,它决定了病毒的组织嗜性,可以介导病毒与细胞受体的结合。最近的研究结果表明,登革热病毒(DV)的E蛋白(DVE)可以和敏感细胞表面的特异受体Fc发生特异性结合,该蛋白是病毒的主要结构蛋白,也是一种糖蛋白,相对分子量为60~70 kD,蛋白长度约为500个氨基酸,主要存在于成熟的病毒粒子表面^[10]。

多数病毒只用一种囊膜蛋白来调节其进入宿主细胞或与细胞融合,如灵长类慢性病毒。也有些病毒,如副粘病毒,通过使用不同的蛋白来完成粘附和融合过程。更复杂的病毒,如疱疹病毒,携带不同的粘附蛋白和融合蛋白^[11]。疱疹病毒的gB、gC和gD在HSV的吸附过程中都起作用。HIV-1外壳上有个重要的糖蛋白,未经蛋白酶水解前gp160,水解后是断裂成gp120和gp41,且认为这种水解对感

染是必需的,已研究确认 HIV 一种主要的感染途径是 gp120 和 T 淋巴细胞表面的 CD4 结合,以及 gp41 引发的病毒和宿主细胞的融合^[12]。

3 主要的病毒受体阻断剂

3.1 多糖及其衍生物对病毒-细胞受体作用的影响

近年来,越来越多的研究证明,一些多糖衍生物如肝素钠或植物凝集素对多种病毒与宿主细胞的吸附或感染都有不同程度的抑制作用。还有文献报道,硫酸乙酰肝素即为细胞膜上的病毒受体,它可以和病毒特异结合,使病毒被大量吸附到靶细胞表面;而植物凝集素虽然不是病毒受体,但由于其有糖结合活性,因此可以和病毒囊膜上的糖蛋白结合造成空间位阻,从而使病毒粒子无法与受体进行特异性结合。多糖尤其是硫酸多糖的抗病毒作用已经为许多的研究所证明,并已引起医学界的高度重视,其抗病机理值得深入研究。

另外,很多文献在研究病毒受体的特性时,用含有病毒粒子主要囊膜蛋白的类似于病毒的粒子与细胞结合,发现该粒子与糖蛋白或糖脂特异结合,并且一些寡糖蛋白或糖脂可特异阻断该粒子与细胞的结合。

3.1.1 植物凝集素

1) 植物凝集素的分子生物学 植物凝集素是指含有 1 个或多个可与单糖或寡聚糖特异可逆结合的非催化结构域的植物蛋白。可分为部分凝集素(merolection)、全凝集素(hololection)、嵌合凝集素(chimerolection)和超凝集素(superlection)4 类^[13]。部分凝集素只含有 1 个糖结合结构域,它不能沉淀复合物和凝集细胞;全凝集素只由糖结合结构域组成,但包含至少 2 个完全相同或非常相似的糖结合结构域,可以凝集细胞和沉淀复合物,多数凝集素属于此类;嵌合凝集素是一类融合蛋白,由 1 个或多个糖结合结构域共同组成;超凝集素至少含 2 个以上的糖结构域,它可以识别结构不同的糖类。植物凝集素的糖结合特异性主要表现为^[14]:

① 凝集素可以结合的糖类范围非常大。目前所知的所有表面糖类几乎都可以为某种糖类所识别。

② 不同结构域的糖类可以识别相同的糖类。因为凝集素糖结合的特异性主要是由其结合位点的三维结构决定,不同凝集素家族成员的结合位点的结构有可能一样,所以有可能识别同一种糖类。

③ 多数凝集素对寡糖具有更高的亲和力。这可能是由于凝集素的糖结合位点与寡糖或复杂寡糖更容易互补的缘故。

④ 多数凝集素的特异性通常是针对微生物或害虫的内外表面的聚糖。凝集素是目前为止发现的唯一可以识别并结合微生物(如真菌和细菌)外表面或植物害虫肠胃表面的糖复合物的植物蛋白。它不但可以葡萄糖、甘露糖或半乳糖这样的单糖,还可以结合植物中不存在的寡糖。

2) 植物凝集素对病毒-细胞受相互作用的影响 植物凝集素由于其糖的特异性可以和不同真核细胞或病毒囊膜

上的糖蛋白或糖脂结合^[15]。在被疱疹性口腔炎病毒感染的单层 BHD21 细胞中加伴刀豆球蛋白 A (concanavalin A, ConA) 可以抑制成熟的病毒粒子的形成^[16]。ConA 与风疹病毒及辛德比斯病毒作用后再去感染单层敏感细胞,则可以降低其感染力^[17-18]。据报道, CER 细胞先与麦胚凝集素(wheat germ agglutinins, WGA) 孵育后再和狂犬病毒及 VSV 作用,可以降低细胞对该病毒的敏感性^[19]。最近许多研究证明,不同的凝集素对 HIV 增殖有不同程度的抗病毒活力。一种从 NPA(*Narcissus pseudonarcissus*) 中获得的新的凝集素可以抗 HIV 的感染,它在结构上是高度特异的 α -1,3-甘露糖分子^[20],其他研究也证实了对甘露糖有特异结合活力的植物凝集素可以阻断 HIV 和敏感细胞的结合或融合^[21-22]。有人用 11 种植物凝集素来研究其对单纯疱疹病毒、狂犬病毒和风疹病毒和敏感细胞结合的抑制作用,结果发现, LPA(*Limulus polyphemus*), ConA(*Canavalia purpurea*) 和 WGA(wheat germ agglutinins) 可以抑制单纯疱疹病毒吸附到靶细胞上,而 BPA(*Bauhinia purpurea* agglutinins) 及大豆凝集素(soybean agglutinins) 则对复制过程中的病毒影响较大; LPA 和 NPA 可阻断狂犬病毒和敏感细胞的吸附作用; WGA 和 BPA 对病毒与细胞吸附后的活动有影响; NPA、WHA 则风疹病毒的增殖有影响^[24]。

3.1.2 肝素及硫酸多糖

1) 肝素及硫酸多糖的分子生物学

肝素是一类糖胺聚糖,由糖醛酸和葡萄糖胺以 1,4 键连接起来的重复二糖单位组成的多糖链混合物。含有 10~30 个二糖单位不等,分子量 4~20 kD,平均分子量 12 kD。2-O-硫酸- α -L-艾杜糖醛酸及 6-O-硫酸-N-硫酸- α -D-葡萄糖胺是其中的主要单糖,由它们组成的三硫酸二糖的重复单位构成了肝素的所谓“规则区”,是肝素结构的主要部分,另外的糖残基,如 α -L-艾杜糖醛酸, 6-O-硫酸-N-乙酰- α -D-葡萄糖胺, β -D-葡萄糖醛酸及 3-6-双-O-硫酸-N-硫酸- α -D-葡萄糖胺以很低的频率出现于“非规则区”。一定数目的 6 位无硫酸化的葡萄糖胺及 2-O-硫酸- α -D-葡萄糖醛酸的存在,使肝素中出现 10 种不同的单糖(4 种糖醛酸和 6 种葡萄糖胺),从而使肝素的整个结构变得很复杂^[25]。

硫酸乙酰肝素(HS)是许多细胞表面的一种组分,也存在细胞介质中。它在结构上与肝素很类似,也是一类糖胺聚糖,而且都含有同样的重复寡糖单位,和肝素相比, HS 的硫酸化程度比较低,而乙酰化程度比较高,平均 1 个二糖单位含有 1 个硫酸基团。它的功能研究普遍认为也有抗凝血活性,但比肝素的低得多。另外,值得一提的是,近年来一些从海洋微生物中提取的多糖特别是硫酸多糖的抗病毒作用已经为许多研究所阐明。硫酸多糖是指糖链上带有硫酸根的多糖,也是抗病毒研究中研究较多的一类多糖。包括从植物中提取的硫酸多糖、肝素、天然中性多糖的硫酸衍生物及人工合成的硫酸多糖,如硫酸葡聚糖、硫酸戊聚糖、硫酸木聚

糖、硫酸香菇多糖和卡拉胶等^[30]。

2) 肝素及硫酸多糖抗病毒作用及其机理

国内外都有文献[26-27]报道,硫酸乙酰肝素为一些病毒的特异受体;所以一些可溶性肝素如肝素钠、硫酸软骨素及硫酸葡聚糖可以特异阻断被膜病毒和宿主细胞的吸附结合,并认为,硫酸乙酰肝素(HS)是登革热病毒的第一受体,病毒首先是和硫酸乙酰肝素结合,然后才和别的受体蛋白结合;用肝素钠或硫酸软骨素先与敏感细胞作用可以阻断病毒和细胞吸附侵入。对口蹄疫病毒(Foot-and-Mouth disease virus, FMDV)研究^[28]也发现,FMDV先与细胞膜上的硫酸乙酰肝素结合,才能进一步进入敏感细胞;其实验依据是:①FMDV的活细胞结合可被肝素特异阻断;②肝素钠处理后的细胞再与FMDV作用,其蚀斑的形成明显减少;③硫酸肝素缺陷型的突变型细胞与FMDV无法结合。对痘苗病毒的研究也有类似的发现^[29]。用肝素酶消化细胞上的硫酸乙酰肝素或用可溶性肝素与病毒作竞争抑制实验也证明了人巨细胞病毒(Human cytomegalovirus, HCMV)囊膜上的粘附蛋白先与肝素结合才可以进一步进入细胞,而且在亲和层析柱上,肝素确实和HCMV结合^[30]。在假狂犬病毒的研究上,也证明了该病毒可以和硫酸肝素或肝素结合^[31]。很多方面的实验证明了疱疹病毒和细胞膜上的硫酸乙酰肝素粘肽结合,然后才是病毒囊膜上其他糖蛋白与膜的第二受体结合并导致了病毒囊膜与质膜的融合,最后使病毒进入细胞进行下一步的一些列活动^[32-38],关于病毒和膜上硫酸乙酰肝素的结合过程可用图2表示^[39]。

目前通过研究确认硫酸肝素为宿主细胞上第一受体的病毒如表1^[39]。

20世纪80年代来的许多研究结果表明,硫酸葡聚糖和其他聚阴离子物质可以干扰反转录病毒(HIV-1)及其他病毒的吸附和侵入,而且这些多糖所用剂量通常低于宿主细胞毒水平,可完全在体外抑制病毒复制。HIV-1对CD4+T淋巴细胞系MT-4感染几乎完全被硫酸葡聚糖(10~25 μg/mL)抑制,HIV-1抗原阳性细胞在5 μg/mL硫酸葡聚糖存在时,经12天培养可被消除。硫酸多糖,甚至一般的聚硫酸化合物对许多的被膜病毒均有抑制作用,研究发现的病毒主要包括人类免疫缺陷病毒HIV、单纯疱疹病毒HSV、巨细胞病毒(cytomegalovirus)、流感A型病毒(influenza A virus)、囊状胃炎病毒(vesicular stomatitis virus)、反转录病毒(retrovirus)^[50]。

遗憾的是,以上研究并没有揭示抑制作用的机理,王长云等^[50]初步认为,抑制作用可能是由这些硫酸聚阴离子结合到病毒或细胞引起。病毒吸附到细胞原生质膜是一种静电现象,需要细胞表面和病毒间的分子亲和力。可能是强负电荷硫酸聚阴离子与病毒或细胞表面正电荷分子结合,从而立体地抑制吸附。与聚阴离子结合的正电荷分子可能在细胞受体附近或受体本身,相应地,聚阴离子可能与向细胞受体吸附的病毒分子或在其附近的病毒分子结合。

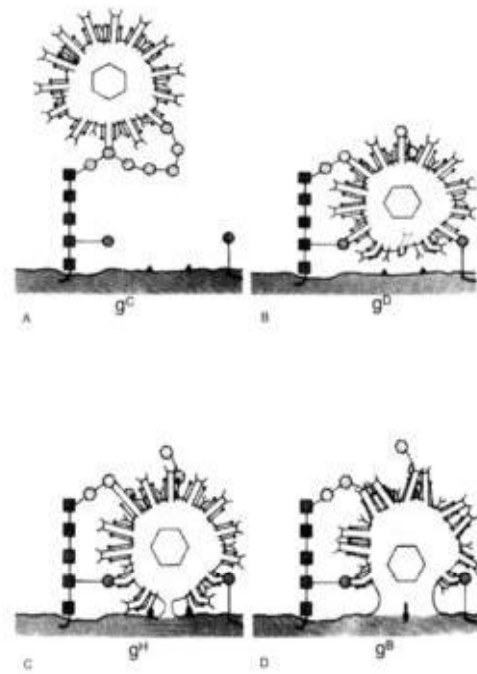


图2 病毒通过和硫酸乙酰肝素第一受体结合为进入宿主细胞过程

以 α 疱疹病毒科为例,首先,病毒gC蛋白和细胞表面硫酸乙酰肝素糖胺聚糖蛋白结合(A),然后,它的gD和同源受体的结合(B),从而构象发生了变化,导致了质膜融合(C),最后遗传物质进入宿主细胞进行整合(D)。

Fig. 2 Alphaherpesvirus entry

The diagram illustrates the hypothetical pathway of alphaherpesvirus entry. A primary interaction between virion gC and heparan sulfate moieties of cell surface proteoglycans (A) is followed by binding of virion gD and its cognate receptors (B). This secondary binding induces a conformational alteration that starts membrane fusion (C). Fusion requires the presence of glycoproteins gH/L, which may itself also bind a cellular receptor (C) and fusion pore expansion involving gB (D). It has to be emphasized that steps (C) and (D) are largely speculative.

3) 单克隆抗体对病毒结合的抑制作用

利用单克隆抗体或独特型抗体,特别是前者来抑制病毒和宿主细胞的结合一直是病毒防治研究中的另一个热点,很多研究通过将完整的靶细胞或靶细胞膜蛋白免疫小鼠制备并筛选细胞的单克隆抗体来找到病毒的特异受体,并取得了很大的进展。这方面研究比较多的是HIV、Catarina等用CD4 T细胞上的gp120单克隆抗体成功阻断HIV侵入CD4细胞^[40]。Seddiiki N等^[41]的研究也认为巨噬细胞细胞上的磷脂和神经酰胺糖苷脂是HIV囊膜蛋白gp120/gp160的特异受体,并且用他们的单克隆抗体可以阻断HIV的结合,但对感染却没有起到抑制作用。Frank L^[42]的研究发现,HIV核衣壳蛋白P24的单克隆抗体可以抑制HIV的复制。

Monique^[43]通过制备虹彩鲑鱼(Rainbow trout)生殖腺细胞3株单克隆抗体成功找到了感染该种类病毒的出血败血性病毒的特异受体,认为该病毒的第一受体为纤连蛋白,并且用免疫荧光和免疫电镜观察到这些单抗能阻断病毒和培养的细胞结合。如果可以分离出比较纯的受体,然后制备其单抗,通过这种方法有望筛选出可以阻断病毒结合的抗体。

但要分离出很纯的受体蛋白在目前对于很多病毒受体来说还是比较困难的工作。主要的难点表现在:①受体在膜细胞的含量很低,仅占细胞膜蛋白中的万分之一以下;②受体蛋白多为整合蛋白,即全部埋于质双层的疏水区中或其疏水性嵌在脂双层中,而亲水区则分别位于膜内、外两侧,也即跨膜蛋白,多数受体属于这一类^[51]。

表1 以硫酸乙酰肝素为第一受体的病毒

Table 1 Heparan sulfate proteoglycans 'capture' receptor

病毒科 Virus genus	病毒名称 Virus name	病毒科 Virus genus	病毒名称 Virus name
痘病毒科	牛痘病毒	腺病毒科	腺病毒 2,5
疱疹病毒科		乳头多瘤空泡病毒科	刺瘤病毒 11
α 疱疹病毒科	单纯疱疹病毒 1	逆转录病毒科	人类免疫缺陷病毒
	单纯疱疹病毒 2	小 RNA 病毒科	口蹄疫病毒
	牛疱疹病毒 1	黄病毒科	登革热病毒
	假狂犬病毒		牛病毒性腹泻病毒
β 疱疹病毒科	人细胞巨化病毒	披膜病毒科	辛德比斯病毒
	人疱疹病毒 7	副粘病毒科	人呼吸道合胞病毒
γ 疱疹病毒科	牛疱疹病毒 4		牛呼吸道合胞病毒

3.2 其他

阻断病毒和宿主细胞的结合尚有很多种途径,有人发现用一些植物来源的化合物可以降低病毒的结合活力^[44-46]。还有发现合成的一些含有病毒主要囊膜蛋白但没有核酸等遗传物质的病毒类似物可以竞争抑制病毒的结合^[47]。既然受体蛋白的糖基化对病毒吸附是必要的,放线菌酮、衣霉素(runicamycin)等可抑制N-糖苷键的形成,利用这些抑制剂也可以抑制病毒的结合^[48]。还有的方法是,利用人工合成的多肽类物质阻断病毒的侵入,这些多肽是病毒囊膜上的结合蛋白或病毒的受体蛋白。

4 展望

病毒感染宿主细胞的首要步骤是病毒和细胞上受体结合,因此考虑在这一步用一些对细胞本身无毒性作用的阻断剂进行阻断研究是可行的。这一研究也将是病毒研究的一大热点。可以相信,随着研究的不断深入,利用现代分子生物学技术进行这方面的研究将会取得很大的突破。

参考文献:

- [1] Dimitrov, D S. How do viruses enter cells? The HIV G. Keil for critical reading of the manuscript coreceptors teach us a lesson of complexity [J]. Cell 91, 1997; 721-730.
- [2] White J, Kielian M, Helenius A, et al. Membrane fusion proteins of enveloped virus [J]. Q Rev Biophys. 1983, 16(1):51-195.
- [3] Yaping Chen, Terry Maguire, Rorym Marks, et al. Demonstration of binding of dengue virus envelope protein to target cells [J]. J Virology, 1996, 9;8 765-8 772.
- [4] Tsao Y S, Huang L. Kinetic studies of sendai virus-target member-ane interaction; independent analysis of binding and fusion [J]. Biochem, 1986, 25; 3 971-3 976.
- [5] Dimitrov D S. Cell biology of virus entry [J]. Cell, 2000, 101; 697-702.
- [6] Lonberg-Holnk, Philipson L. Virus recaptor, Part 2. Animal Virus [M]. London:Chapman and Hall, 1981.
- [7] Boycott R, Klenk H D, Hucl M O, et al. Cell tropism of influenza virus mediated by hemagglutinin inactivation at the stage of virus entry [J]. Virology, 1994, 203;313-319.
- [8] Flinta M, Thomas J M, Maidens C M, et al. Funtional analysis of cell surface-expressed hepatitis C virus E2 glycoprotein [J]. J Virus, 73(8);6 782-6 790.
- [9] Salas-Benito J S, del Angel R M. Identification of two surface proteins from C6/36 cells that bind dengue type 4 virus J[J]. Virol, 1997, 71(10);7 246-7 252.
- [10] 杨春雨,江丽芳. 登革热病毒 E 蛋白受体研究进展 [J]. 国外医学:微生物学分册, 2001, 24(4):17-18,30.
- [11] Sears A E, McGwire B S, Roizman B. Infection of polarized MD-CK cells with herpes simplex virus 1;Two asymmetrically distributed cell receptors interact with different viral proteins [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991,88;5 087-5 091.
- [12] Moore J P, Sodroski J. Antibody cross-competition analysis of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 exterior envelope glycoprotein [J]. J Virol, 1996, 70;1 863-1 872.
- [13] 高 莹. 植物凝集素的分子生物学研究 [J]. 生物技术通报. 2000, 5;18-22.
- [14] 王克夷,吴高德. 凝集素碎片的糖结合活性 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1996, 28(2);124-130.
- [15] Balzarini J, Neyts J, Schols D, et al. The mannose-specific plant

- lections from *Cymbidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine)n-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro [J]. *Antiviral Res.*, 1992, 18:191-207.
- [16] Cartwright B. Effect of concanavalin A on vesicular stomatitis virus maturation [J]. *J Gen Virol*, 1977, 34:249-256.
- [17] Urade M, Sato M, Yoshida H, et al. Effect of concanavazaki A on the infectivity of rubella virus and its variants [J]. *Arch Virol*, 1978, 56:359-363.
- [18] Mastromarino P, Conti C, Orsi N. Effect of concanavalin A on early interactions of Sindbis virus with goose erythrocytes and BHD21 cell [J]. *Microbiologica*, 1986, 9:225-235.
- [19] Conti C, Superti F, Tsing H. Membrane carbohydrate requirement for rabies virus binding to chicken embryo-related cell [J]. *Intervirology*, 1986, 26:164-168.
- [20] Mastromarino P, Conti C, Orsi N. Involvement of carbohydrates in vesicular stomatitis virus-cell early interaction [J]. *Acta Virol*, 1989, 33:513-520.
- [21] Weiler B E, Schroder H C, Stefanovich V, et al. Sulphoenonan, a polyanionic polysaccharide, and the narcissus lectin potentially inhibit human immunodeficiency virus infection by binding to viral envelope protein [J]. *J Gen Virol*, 1990, 71:1957-1963.
- [22] Matsui T, Kobayashi S, et al. Effects of succinylated concanavalin A on infectivity and syncytial formation of human immunodeficiency virus [J]. *Med Microbiol Immunol*, 1990, 179:225-235.
- [23] Balzarini J, Schlos D, Neyts J, et al. Alfa-(1-3)-and alfa-(1-6)-D-mannose-specific plant lectins are markedly inhibitory to human immunodeficiency virus and cytomegalovirus infections in vitro [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991, 35:410-416.
- [24] Animashaun T, Mahmood N, Hay J, et al. Inhibitory effects of nonel mannose-binding lectins on HIV infectivity and syncytium formation [J]. *Antiviral Chem Chemother [J]*, 1993, 4:145-153.
- [25] 高宁国, 程秀兰. 肝素结构与功能的研究进展 [J]. *生物工程进展*, 1999, 19(5):4-13.
- [26] Jose de Jesus Martinea-Baragan, Rose M. Identification of a putative co-receptor on vero cells that participates in Dengue 4 virus infection [J]. *J of Virol*, 2001, 75(17):7818-7827.
- [27] Hung Shan-Ling, Lee Pei-lun, Chwan-chuen King, et al. Analysis of the steps involved in Dengue virus entry into host cells [J]. *J Virol*, 1999, 257:156-167.
- [28] Chung Che-cheng, Hsiao Jye-chian. A27L protein mediates Vaxxinia virus interaction with cell surface heparan sulfate [J]. *J Virol*, 1998, 72(2):1577-1585.
- [29] Terry Jackson, Ellard M. Efficient infection of cells in culture by type O Foot-and-Mouth disease virus requires binding to cell surface heparan sulfate [J]. *J Virol*, 1996, 70(8):5282-5287.
- [30] Teresa Compton, Dawn M. Initiation of human cytomegalovirus infection require initial interaction with cell surface heparan sulfate [J]. *Virology*, 1993, 193:834-841.
- [31] Edward Tribala, Tomas Bergstrom. Mode of interaction between Pseudorabies virus and heparan/heparin [J]. *Virology*, 1996, 218:35-42.
- [32] Ruth tal-singer, Charline Peng. Interaction of herpes simplex virus glycoprotein gC with mammalian cell surface molecules [J]. *J Virol*, 1995, 69(7):4471-4483.
- [33] Alain Jaquet, Michele Haumont. The varicella zoster virus glycoprotein B(gB) play a role in virus binding to cell surface heparan sulfate proteoglycans [J]. *Virus Research*, 1998, 53:197-207.
- [34] Marchetti M, Mastromarino P S, Rieti L, et al. Inhibition of herpes simplex, rabies and rubella viruses by lectins with different specificities [J]. *Res Virol*, 1995, 146:211-215.
- [35] Ken Maeda, Naoaki Yokoyama. Heparin-binding activity of feline herpesvirus type 1 glycoproteins [J]. *Virus Research*, 1997, 52:169-172.
- [36] Banfield Bruce W, Yves Ledus. Sequential isolation of proteoglycan synthesis mutants by using Herpes Simplex virus as a selective agent; evidence for a proteoglycan-independent virus entry pathway [J]. *J Virol*, 1995, 69(3):3290-3298.
- [37] Byrne M, Horohov W. Glycoprotein B of bovine herpesvirus-1 binds heparin [J]. *Virology*, 1995, 209:230-235.
- [38] Alexander Birkmann, Kerstin Mahr. Cell surface heparan sulfate is a receptor for human herpesvirus 8 and interacts with envelope glycoprotein K8.1 [J]. *J Virol*, 2001, 75(23):11583-11593.
- [39] Mettenleiter C. Brief overview on cellular virus receptors [J]. *Virus Research*, 2002, 82:3-8.
- [40] Hioe E, Michael Tuen, Chien C. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 gp120 presentation to CD4 T cells by antibodies specific for the CD4 binding domain of gp120 [J]. *J Virol*, 2001, 75(22):10950-10957.
- [41] Seddiki N, Saffar L A. A monoclonal antibody directed to sulfatide inhibits the binding of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) envelope glycoprotein to macrophages but not their infection by the virus [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1225(3):289-296.
- [42] Franke L, Grunow R, Meissner K, et al. Inhibition of HIV-1 infection in vitro by murine monoclonal anti-p24 antibodies [J]. *J Med Virol*, 1992, 37(2):137-142.
- [43] Monique Bearzotti. Fish rhabdovirus cell entry is mediated by fibronectin [J]. *J Virology*, 1999, 73(9):7703-7709.
- [44] Spino C, Dodier M, Sotheeswaran S A. Anti-HIV coumarins from calophyllum seed oil [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, 8(24):3475-3478.
- [45] Jung M, Lee S, Kim H. Recent studies on natural products as anti-HIV agents [J]. *Curr Med Chem*, 2000, 7(6):649-661.
- [46] Xu Z Q, Kern E R, Westbrook L. Plant-derived and semi-synthetic calanolide compounds with in vitro activity against both hu-

- man immunodeficiency virus type 1 and human cytomegalovirus [J]. *Antivir Chem Chemother*, 2000, 11(1):23-29.
- [47] Komagome R, Sawa H, Suzuki T. Oligosaccharides as receptors for JC virus [J]. *J Virol*, 2002, 76(24):12 992-13 000.
- [48] Denise Nanche, Wild T F. A monoclonal antibody recognize a human cell surface glycoprotein involved in measles virus binding [J]. *J Gen Virol*, 1992, 73:2 617-2 624.
- [49] Damico R I, Crane J, Kim P. Receptor-triggered membrane association of a mode retroviral glycoprotein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(5):2 580.
- [50] 王长云, 管华诗. 多糖抗病毒作用研究进展 II. 硫酸多糖抗病毒作用 [J]. *生物工程进展*, 2000, 20(2): 85.
- [51] 吕宝璋, 卢建, 安明榜. 受体学 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2000.
- [52] 刘刚, 陈慧鹏. 冠状病毒感染细胞的受体结合机制 [J]. *生物技术通讯*, 2003, 14(3).

Progress on treatment of animal virus with antagonists

LU Chun-ling^{1,2}, HUANG Jie², LI Yun¹

(1. Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071, China)

Abstract: The initial even in viral particles infection is attachment to the receptors which lie on the surface of host cell, and then have a series of biological changes. The studies about these are a hot point in viral field these years, also many progress have been made in understanding the molecular mechanisms of virus-cell receptor systems. Virus entry is a multistep process which comprises viral attachment, co-receptor interactions and fusion. This cascade of events offers opportunities for therapeutic intervention, and clinical proof of principle has been obtained for inhibitors of each step. In this report, we demonstrated the mechanisms of animal virus-host. Moreover, we showed that some heparines and plant lections such as concanavalin A and wheat germ agglutinin play an important role in the process of virus attachment to cell receptors. The conclusion bases on the studies that plant lections and soluble heparin, a glycosaminoglycan (GAG) side chain of cell surface proteoglycans, specifically inhibit virus binding to target cells during virus infection. Otherwise, many studies also indicated that cell surface heparin could be a primarily receptor of virus, and some plant lections could inhibit virus to contact with host cells because of its characters that at least have one non-catalytic domain which can bind reversibly a specific mono-or oligosaccharides. Some other studies indicated that some monoclonal antibody (MAbs) against virus or viral receptors can inhibit the binding of virus to target cells.

Key words: animal virus; cell receptors; heparine; plant lections; monoclonal antibodies (MAbs), inhibit