

疱疹病毒与内质网应激

刘宇婷¹, 李国新^{1,2}, 王斌^{3,4}

1 中国农业科学院上海兽医研究所, 上海 201100

2 江苏高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009

3 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 黑龙江 哈尔滨 150069

4 默沙东(宁波)动物保健科技有限公司, 浙江 宁波 315336

刘宇婷, 李国新, 王斌. 疱疹病毒与内质网应激. 生物工程学报, 2021, 37(1): 67-77.

Liu YT, Li GX, Wang B. Herpesvirus and endoplasmic reticulum stress. Chin J Biotech, 2021, 37(1): 67-77.

摘要: 内质网是分泌型蛋白和膜蛋白折叠及翻译后修饰的主要场所。病毒感染所引起的宿主细胞内环境的改变可使细胞或病毒的未折叠和/或错误折叠蛋白在内质网中大量聚集, 使内质网处于生理功能紊乱的应激状态。为了缓解这种应激压力, 细胞会启动未折叠蛋白反应 (UPR), 并通过一系列分子的信号转导维持内质网稳态; 同时病毒也会通过对 UPR 的精密调控营造有利于其复制与增殖的细胞内环境。疱疹病毒是一类有囊膜的 DNA 病毒, 在病毒复制过程中, 其表面大量的糖基化囊膜蛋白的合成及成熟依赖于内质网, 并由此诱发内质网应激。现将对疱疹病毒感染与内质网应激的最新研究进展做一总结归纳。

关键词: 内质网应激, 未折叠蛋白反应, 疱疹病毒

Herpesvirus and endoplasmic reticulum stress

Yuting Liu¹, Guoxin Li^{1,2}, and Bin Wang^{3,4}

1 Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201100, China

2 Jiangsu Co-Innovation Center for the Prevention and Control of Important Animal Infectious Disease and Zoonoses, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

3 Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, Heilongjiang, China

4 MSD (Ningbo) Animal Health Technology Co., Ltd., Ningbo 315336, Zhejiang, China

Abstract: Endoplasmic reticulum (ER) is an important organelle where folding and post-translational modification of secretory and transmembrane proteins take place. During virus infection, cellular or viral unfolded and misfolded proteins accumulate in the ER in an event called ER stress. To maintain the equilibrium homeostasis of the ER, signal-transduction

Received: April 21, 2020; **Accepted:** July 6, 2020

Supported by: National Key Research and Development Program of China (No. 2016YFD0500100), Shanghai Science and Technology Innovation Action Plan (No. 17391901900), Key Area Research and Development Program of Guangdong Province, China (No. 2019B020218004), Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, China (No. QC2017028), National Natural Science Foundation (No. 31873013).

Corresponding authors: Guoxin Li. Tel: +86-21-54082828; E-mail: guoxinli@shvri.ac.cn

Bin Wang. Tel: +86-451-51997177; E-mail: wangbinvet@hotmail.com

国家重点研发计划项目 (No. 2016YFD0500100), 上海市科技创新行动计划项目 (No. 17391901900), 广东省重点领域研发计划资助 (No. 2019B020218004), 黑龙江省自然科学基金 (No. QC2017028), 国家自然科学基金 (No. 31873013) 资助。

pathways, known as unfolded protein response (UPR), are activated. The viruses in turn manipulate UPR to maintain an environment favorable for virus survival and replication. Herpesviruses are enveloped DNA viruses that produce over 70 viral proteins. Modification and maturation of large quantities of viral glycosylated envelope proteins during virus replication may induce ER stress, while ER stress play both positive and negative roles in virus infection. Here we summarize the research progress of crosstalk between herpesvirus infection and the virus-induced ER stress.

Keywords: endoplasmic reticulum stress, unfolded protein response, herpesvirus

内质网是细胞内蛋白质合成、翻译后修饰、加工和折叠的重要场所。在真核细胞中,粗面内质网膜上的核糖体负责蛋白质的合成,合成的初生肽链进入内质网进行翻译后的修饰和折叠。蛋白在内质网中的折叠是一个易于出错的过程,但细胞具有一套精密的蛋白质质量控制系统,确保能够将内质网中折叠正确的蛋白及时转运至高尔基体中进行下一步的加工,同时将折叠错误的蛋白通过细胞特定的蛋白降解通路降解^[1]。但当细胞生长条件发生变化(如生长温度的改变、DNA损伤、化学诱导、微生物感染)时,内质网中的未折叠或错误折叠蛋白常常异常累积而超出了细胞的处理能力,未折叠蛋白会暴露出存在其内部的疏水性氨基酸残基并引起蛋白质聚集,聚集蛋白的逐渐增多,使细胞处在一种压力下的受威胁状态,这种状态称为内质网应激^[2]。

细胞出于自我保护的目的,会启动未折叠蛋白反应(Unfolded protein response, UPR)缓解应激压力。哺乳动物细胞存在3种UPR感受蛋白,分别为肌醇需酶1(Inositol-requiring kinase 1, IRE1)、转录活化因子6(Activating transcription factor 6, ATF6)和蛋白激酶RNA样内质网激酶(Protein kinase RNA-like ER kinase, PERK)。在正常生理条件下,这3种内质网跨膜蛋白N末端与内质网腔中的葡萄糖调节蛋白78(Glucose regulate protein 78, GRP78, 又称BiP)结合,而处于无活性状态。但当细胞发生内质网应激时,内质网中大量聚集的未折叠或错误折叠的蛋白会与这3种蛋白竞争性地结合GRP78,3种感受蛋白与GRP78解离后,随即转变为游离状态并被活化^[3]。活化的IRE1、ATF6和PERK可分别通过

各自的信号通路启动UPR。

被活化的IRE1可通过其核酸内切酶活性对其底物蛋白X盒结合蛋白1(X box binding protein 1, XBP1)进行剪切,剪切产物XBP1s是许多UPR调控基因的重要转录因子,这些基因的表达产物对于内质网蛋白的折叠、运输、合成及内质网相关蛋白降解通路都具有重要的调节作用^[3]。IRE1不仅可对XBP1进行剪切,还可以通过IRE1依赖性mRNA降解活性(Regulated IRE1-dependent decay, RIDD)选择性地降解mRNA以抑制特定蛋白的翻译,但在内质网持续应激时,这一通路亦可诱导细胞凋亡^[4]。此外,在胞质中游离的IRE1还可结合并活化肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor α , TNF- α)受体相关因子2(TRAF2),后者进一步激活NF- κ B和C-Jun N末端激酶(JNK)通路,从而激活细胞内的炎症反应和细胞凋亡信号^[5]。

活化的PERK可通过降低蛋白合成速率的方式缓解内质网应激^[3]。PERK催化其底物蛋白真核转录起始因子eIF2 α 第5位丝氨酸的磷酸化,磷酸化的eIF2 α 不能完成GTP与GDP的交换作用,从而减缓或暂停蛋白质的合成,进而缓解内质网的超负荷^[1];同时eIF2 α 也会上调ATF4基因的表达,后者转运到细胞核内调控应激基因的转录。ATF4作用的下游转录因子GADD34能够使eIF2 α 脱磷酸化并使ATF4表达量恢复正常水平,重新恢复蛋白质合成过程,并由此建立蛋白质合成过程中的“起始-停止”这一动态平衡^[6]。此外PERK-eIF2 α -ATF4通路也是CHOP蛋白表达的重要调控因素。CHOP作为细胞由抗凋亡向促凋亡转换的重要信号分子,可调控多种基因的表达。例如,CHOP可抑制Bcl-2抗凋亡作用,也可激活

caspase 级联反应, 进而诱导细胞凋亡^[7]。

ATF6 是 II 型跨膜蛋白, 其 N 端胞浆区具有转录活性。当细胞发生内质网应激时, 内质网膜上的 ATF6 与 GRP78 解离, 而此时的 ATF6 不会被寡聚化, 而是释放出高尔基定位序列, 被转运到高尔基体中, 并被 S1P 和 S2P 蛋白酶裂解, 裂解的 ATF6 释放出 N 端胞浆区, 即为有转录活性的 ATF6 蛋白 ATF6(N)。被激活的 ATF6 可进入细胞核内调节带有内质网应激反应元件 (ERSE) 和 ATF/cAMP 反应元件 (CREs) 的基因的表达^[8], 这些基因可表达包括 GRP78、糖调节蛋白 94 (Glucose regulate protein 94, GRP94)、钙连蛋白 (Calnexin) 等具有分子伴侣活性的蛋白, 以进一步辅助内质网中未正确或未完全折叠的蛋白形成正确的空间构象。

1 疱疹病毒感染与内质网应激

作为严格的细胞内寄生物, 病毒在感染过程中, 会“劫持”多种细胞进程、主动调控或改变细胞内环境, 以为自身的复制创造有利条件^[9]。例如, 病毒必须借用宿主细胞的蛋白合成系统合成自身蛋白, 以用于子代病毒粒子的组装。一旦病毒建立了有效的感染, 病毒粒子的指数级复制伴随着大量病毒蛋白在细胞内质网中的迅速聚集, 加之细胞自身蛋白合成的需求 (哺乳动物细胞大概有 1/3 的蛋白的合成需要依赖内质网), 内质网中超负荷的蛋白加工进程极易引起细胞的内质网应激^[10-11], 此时细胞为了维持自身稳态, 会通过启动 UPR 介导的蛋白降解、细胞凋亡、炎症反应、自噬等抑制病毒蛋白的合成、降解病毒蛋白或诱导伴侣分子表达, 从而应对病毒感染导致的内质网应激^[12-16]。另一方面, 病毒为了达到其有效复制的目的, 则会通过对 UPR 的调控, 创造对病毒增殖的有利因素、消除对其增殖的不利因素, 以持续性地建立感染^[1], 此外病毒还可通过调控 UPR 抑制干扰素 (IFN) 等天然抗病毒分子的表达, 进而逃避机体的免疫抑制作用^[17]。深入

了解内质网应激与病毒感染之间的共生调控关系对鉴定新的抗病毒靶点或提出其他新的抗病毒策略和具有重要的意义。

疱疹病毒是一类有囊膜的 DNA 病毒^[18-19], 病毒基因组编码多达 11 种糖蛋白^[20-21], 在病毒感染过程中, 这些蛋白必须经过内质网正确的修饰和折叠才能具备正常的生物学功能。这些糖蛋白对细胞内质网的“过度使用”极易引起内质网应激。研究表明, 多种疱疹病毒在蛋白合成、复制过程中均可引起内质网应激, 并通过调控 UPR 创造有利于自身复制的环境, 同时细胞也会在应激条件下主动或被动地影响病毒复制。

1.1 单纯疱疹病毒 1 型 (HSV-1)

单纯疱疹病毒 1 型 (Herpes simplex virus 1, HSV-1) 属于 α 疱疹病毒亚科 (Alphaherpesvirinae), 其感染可诱导内质网应激, 通过对 UPR 的调控来帮助其自身的病毒复制。在病毒感染早期, HSV-1 可抑制 PERK 通路, 虽然 ATF6 被活化, 但其下游信号分子如 GRP78、GRP94 的表达没有显著变化^[22]。Mulvey 等研究表明, 多种 HSV-1 病毒蛋白在抑制 PERK 通路中发挥作用: HSV-1 可以通过其糖蛋白 gB 主动抑制 PERK 通路, 阻止由 eIF2 α 磷酸化引起的翻译抑制^[23]。也有报道指出 HSV-1 的 UL11 蛋白也可以与蛋白激酶 R (Protein kinase R, PKR) 结合以阻碍 PKR 对 eIF2 α 的磷酸化, 由此抑制 UPR 信号的传导^[24-25]。在病毒感染过程中, HSV-1 也可抑制 IRE1/XBP1 通路。近期的一项研究发现 HSV1 可通过抑制 IRE1 的核酸内切酶活性降解 XBP1 的 mRNA, 以下调 XBP1 的表达及转录因子 XBP1s 的生成, 而 UL41 蛋白缺失的病毒不具备这一特性, 表明对于 IRE1/XBP1 通路的阻断功能是由 UL41 蛋白行使^[26]; 但是也有研究表明 HSV-1 感染能够上调 IRE1 α 的表达, 增加 IRE1 α 的 RNA 酶活性或抑制其激酶活性, 可通过 c-Jun 途径抑制病毒增殖。以上研究表明, 在 HSV-1 感染过程中可有效调节 UPR 的 3 条通

路(正向或负向调控),其背后的生物学意义可能在于病毒通过抑制 UPR 的方式抵挡宿主细胞产生的对自身不利因素,从而达到顺利合成自身蛋白并有效建立感染的目的^[27]。

1.2 伪狂犬病毒 (PRV)

伪狂犬病毒 (Pseudorabies virus, PRV) 属于 α 疱疹病毒亚科 (Alphaherpesvirinae), PRV 能够在感染细胞的早期 (2–8 h) 上调 GRP78 基因的转录和蛋白表达,而随着感染时间的延长 (12–24 h), GRP78 的表达不再继续增加,这表明 PRV 只有在感染早期诱导内质网应激反应,且应激反应强弱与病毒复制水平并无平行关系(病毒在感染后第 24 h 达到复制高峰)。通过对 3 条 UPR 通路的相关分子检测, Yang 等发现在病毒感染细胞中,从感染后第 4 h 开始,磷酸化的 IRE1 高于未感染组,且一直持续至感染后 24 h。相应地, IRE1 下游分子 XBP1 被切割。利用 RNAi 抑制 IRE1 和 XBP1 的表达, PRV 的复制没有显著变化^[28]。这些结果表明, PRV 感染可激活 IRE1-XBP1 通路,但该通路不会显著影响病毒的复制。通过对 PERK 通路的检测发现,在病毒感染初期(第 2 h)和晚期(第 24 h),磷酸化的 eIF2 α 的表达量上调,且 PERK 下游分子 ATF4 和 CHOP 的表达量也随之上调, CHOP 的下游凋亡调节分子 Bcl-2 的转录水平在感染后第 24 小时也随之上调,这表明 PRV 感染可激活 PERK-CHOP-Bcl-2 通路。接着作者利用过量表达 GRP78 和小分子药物处理细胞的方法,在整体水平检测了内质网应激与病毒复制的关系:细胞内过量表达 GRP78 可将病毒的复制滴度提高 10–100 倍,但抑制 GRP78 的表达却不影响病毒复制;内质网应激的诱导剂 Tg 能够显著上调 PRV 的复制,而另外两种诱导剂 TUDCA 和 DTT 却下调病毒复制,这表明内质网应激确能调控 PRV 复制,但这一过程可能有着较为复杂的调控机制(例如内质网应激及其诱导的 UPR 通过对细胞其他生物学过程的调控而影响病毒复制)。理论

上,若是内质网应激对病毒复制进行直接调控,那么 PRV 唯一激活 UPR 通路 (PERK 通路) 中相关分子应对病毒复制具有明显调节作用,遗憾的是 Yang 等在其研究中并没有阐明 PERK-CHOP 通路与病毒复制的关系,这为后续的研究指明了方向。

1.3 马立克病毒 (MDV)

马立克病毒 (Marek's disease virus, MDV) 属于 α 疱疹病毒亚科 (Alphaherpesvirinae), MDV 感染鸡胚成纤维细胞后第 5 天可显著上调 GRP78/BiP 的表达,病毒主要激活 UPR 的 IRE1 和 ATF6 通路,而不激活 PERK 通路^[29]。MDV 按照其毒力可以分为温和型 MDV (mMDV)、强毒型 MDV (vMDV)、超强毒型 MDV (vvMDV) 和特超强毒力型 MDV (vv+MDV)。对不同毒力毒株的研究发现, vv+MDV TK-2a 株感染细胞中,内质网伴侣分子 GRP94 的表达上调了约 9 倍,而在 vMDV 感染细胞中上调了约 2 倍,此外 TK-2a 感染细胞可以显著上调 (9.8 倍) ERAD 相关基因 HERPUD1 的表达,而 RB-1B 和 Md5 两个毒株 (vvMDV) 只能中等程度 (不到 2 倍) 上调 HERPUD1 的表达^[29], 这些现象可能提示 MDV 诱导内质网应激的强弱与病毒毒力相关,但这种相关性很可能受多种因素调控,因为通过对 XBP1 切割的检测发现, mMDV 感染细胞所引起的 XBP1 的切割反而更强;而从病毒自身特性来看,由于 vv+MDV 并没有完全适应在体外细胞系上的复制,与其他毒力毒株相比, vv+MDV 复制更慢,造成细胞损伤的速度更慢,这种病毒增殖的滞后性可能为内质网应激的发生创造更多的时间和空间条件(在相同时间点,其他毒力毒株感染的细胞由于病毒的快速复制可能已经凋亡或崩解)。除了病毒毒力以外, MDV 致癌基因 Meq 也对 UPR 有重要调控作用^[29], 其机制有可能为 Meq 通过与 ATF6、XBP1 等效应分子的直接相互作用而影响蛋白功能或信号转导^[30]。综上所述,可以推论在 MDV 感染细胞中,可能存在病毒表型(毒力、致癌性)与内

质网应激的交互调控网络。

内质网应激也可能间接影响 MDV 的致病性。vv+MDV 感染动物以后, 可导致大量促炎因子(例如 IL-1 β 、IL-6、IL-8) 和诱导型一氧化氮合酶(iNOS) 的表达上调^[31-32], 这些促炎因子及活性氧(ROS) 可对机体造成病理损伤, 而 UPR 激活的各种转录因子能够促进炎性因子的转录已被广泛报道^[33], 因此 MDV 所激活的内质网应激也可能是病毒对感染宿主靶器官造成损伤的诱因之一^[34]。

1.4 鸭瘟病毒 (DEV)

鸭瘟病毒 (Duck enteritis virus, DEV) 属于 α 疱疹病毒亚科 (Alphaherpesvirinae), DEV 感染鸭胚成纤维细胞引起内质网扩张及 GRP78/BiP 表达的上调。病毒感染诱导的 UPR 激活 IRE1 和 PERK 通路, 但不激活 ATF6 通路。为了研究 IRE1 和 PERK 通路对病毒复制的影响, Yin 等通过 siRNAs 抑制细胞 PERK 和 IRE1 的表达, 之后检测感染细胞的病毒滴度, 结果表明 DEV 在低水平表达 PERK 和 IRE1 细胞中, 复制水平下降 1 000 倍左右^[35], 这说明内质网应激能够辅助 DEV 的复制。

与 VZV 类似, DEV 感染所诱发的内质网应激也与自噬相关。细胞内存在 2 种形式的微管相关蛋白 1 轻链 3 (Microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3/Atg8) 蛋白: LC3- I 和 LC3- II。当自噬体形成后, LC3- I 转化为 LC3- II 并定位于自噬体内膜和外膜上, 因此检测细胞 LC3- II 与 LC3- I 的比例可以间接反应细胞自噬体的数量。Yin 等的研究发现抑制 PERK 和 IRE1 的表达以后, 细胞内 LC3- II/LC3- I 的数量也相应减少^[35], 表明 DEV 可以通过内质网应激正向调控细胞自噬的发生。先前的研究表明 DEV 可利用细胞自噬促进自身的复制^[36], 这使得笔者做出科学假设: 一方面, 内质网应激导致细胞内环境的改变可能为 DEV 的复制提供便利, 由此 PERK 和 IRE1 可通过内质网应激直接影响病毒复制, 此时不需要细胞自噬的参与; 另一方面, PERK 和 IRE1 调控

自噬进程, 而自噬进一步影响病毒的复制。因此, 内质网应激是直接、亦或间接影响 DEV 的复制需要进一步探索。

1.5 卡波西肉瘤相关疱疹病毒 (KSHV)

卡波西肉瘤相关疱疹病毒 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV) 属于 γ 疱疹病毒亚科 (Gammaherpesvirinae), Wilson 等报道了内质网应激调控 KSHV 复制的机制。在 PEL 细胞系 (JSC-1 和 BC-3) 中, 内质网应激促进 XBP1 的切割, 切割产物 XBP1s 靶向活化 ORF50 基因启动子, 其编码产物转录激活调节蛋白 (Regulator of transcription activation, RTA) 可以将 KSHV 从潜伏状态诱导为裂解状态^[37], 这提示内质网应激对 KSHV 复制具有正向调节作用^[38], 而在细胞中过量表达 XBP1s 虽可促进裂解基因的表达及病毒基因组复制, 但却抑制病毒粒子的组装及释放, 这种抑制作用与 RTA 无关^[39], 这些研究结果表明 KSHV 感染细胞可能介导 XBP1s 参与不同于经典 UPR 通路的“旁通路”调控病毒的裂解感染和复制, 亦提示内质网应激与病毒复制并非是直线相关, 例如, 利用糖代谢抑制剂 2-DG 处理细胞所诱导的内质网应激可抑制病毒裂解基因的表达并促发 PERK 通路重要调控分子 eIF2 α 失活, 由此通过抑制了胞内蛋白的生物合成而抑制 KSHV 的重激活和复制^[40]。

最新的研究表明, KSHV 的裂解感染可同时活化 IRE1、PERK 和 ATF6, 激活的 IRE1 能够在更高水平将 XBP1 切割为 XBP1s, 但后者并不能激活靶基因 EDEM1 和 ERdj4 的转录; 活化的 PERK 能够促进 eIF2 α 的磷酸化, 但 eIF2 α 无法促进转录因子 ATF4 的聚集, 使得其不能上调末端靶基因 CHOP 的转录; 类似地, ATF6 的下游靶基因 BiP 和 HERPUD1 的转录水平也没有上调, 这表明处于裂解感染状态的 KSHV 虽然能够诱发内质网应激反应, 但是细胞通过 UPR 来缓解内质网的调控通路被阻断。KSHV ORF37 的编码产物 SOX 是宿主细胞基因表达的一个“关闭”蛋白, 能

够在病毒感染过程中,抑制细胞相关分子的表达而营造对自身有利的复制环境。Johnston 等的研究表明,SOX 其在宿主细胞中过量表达并不影响 UPR 相关基因的表达,这表明病毒利用某种未知的机制(而非 SOX)来抑制 UPR 3 条通路相关基因的活化^[39]。另一方面,在细胞中过量表达 KSHV 基因编码的 ORF47/45 蛋白(这两个蛋白定位于细胞内质网中,参与细胞的 UPR 过程)可激活 IRE1 通路,同时 ORF47/45 可在病毒的裂解感染期上调 293T 细胞中 GRP78/BiP 的表达,GRP78/BiP 反过来促进 KSHV 的组装和释放^[41]。综合先前的报道^[38],这可能提示病毒主动干扰了细胞缓解自身内质网应激的反馈通路,或者通过改变有利于自身组装和复制的分子的表达,营造有利于自身裂解感染及复制的胞内微环境,而病毒是采用“阻断细胞内质网应激压力的缓解”的方式,还是“上调 GRP78/BiP 的表达”的方式,可能与感染细胞的差异及病毒特性有密切关系^[39]。以

上结果表明 KSHV 的胞内感染与内质网应激之间的调控受多种因素影响。可以预见的是,通过潜伏或裂解形式感染细胞的 KSHV 所诱导的内质网应激可对细胞正常生理进程产生影响,反之,细胞为缓解内质网应激所进行的适应性反馈也影响着病毒的感染过程。

1.6 其他疱疹病毒

除上述 5 种疱疹病毒外,亦有研究表明内质网应激在人巨细胞病毒(Human cytomegalovirus, HCMV)^[42-46]、鼠巨细胞病毒(Murine Cytomegalovirus, MCMV)^[47-48]、水痘带状疱疹病毒(Varicella-zoster virus, VZV)^[49-50]、Epstein-Barr 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)^[51-56]感染过程中也发挥一定的作用,例如, VZV 介导的内质网应激所触发的 UPR 能够诱导细胞自噬的发生,以维持自身的稳态; EBV 诱发的内质网应激可通过 XBP1s 激活 EBV 立即早期蛋白的启动子,从而诱发病毒由潜伏感染到裂解感染的转化。

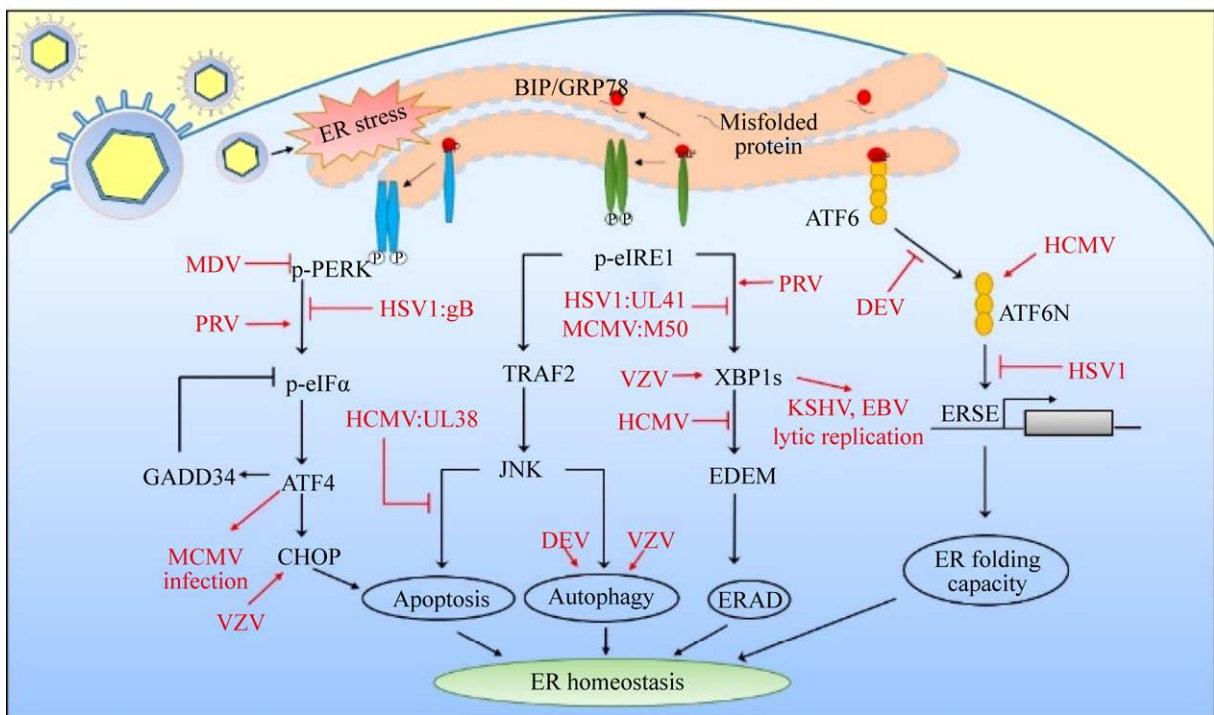


图 1 疱疹病毒感染与 UPR 的相互调节

Fig. 1 Modulation of the UPR by herpesvirus.

表 1 疱疹病毒感染与内质网应激的相互关系

Table 1 Crosstalk of ER stress and herpesvirus infection

Virus	Pathway	Mechanism	References
HSV-1	Activates ATF6 at early stage of infection	UL41 inhibits the endonuclease activity of IRE1. gB, ICP34.5 and pUL11 mediated eIF2 α dephosphorylation in order to facilitate HSV-1 replication.	[22–27]
PRV	Induces GRP78 at early stage of infection activates IRE1 and PERK	Unknown	[28]
HCMV	Modulates three UPR pathways	Induced-GRP78 facilitates virion assembly and egress.	[42–46]
MCMV	Induces PERK branch, blocks IRE1 branch	Inhibits the ERAD pathway to facilitate MCMV replication.	[47–48]
VZV	Activates PERK and IRE1 branches	XBP1s leads to VZV caused ER expansion. Induces autophagy.	[49–50]
MDV	Activates ATF6 and IRE1 branches	ER stress mediates MDV-induced inflammation.	[29–34]
DEV	Induces IRE1 and PERK branches	ER stress mediates DEV-induced autophagy.	[35–36]
KSHV	Activates three UPR branches at lytic infection	ER stress induces the activity of RAD21 to facilitate KSHV lytic infection.	[37–41]
EBV	Activates three UPR branches	ER stress mediates the transition of EBV from latent infection to lytic infection.	[51–56]

疱疹病毒与内质网应激的相互调控机制可能因病毒种属和囊膜糖蛋白的差异而有所不同，在这种环形回馈通路中，病毒和细胞如何分别利用自身资源平衡各自的生物学进程，以及不同调控机制的病理及生理意义，尚有待深入研究。

2 结语与展望

内质网作为蛋白合成和加工的重要场所，是病毒复制所必需的，同时会受到外来病原体的影响而处于应激状态。UPR 作为机体内复杂的信号转导通路，通过提高蛋白合成能力、减轻内质网负荷压力和诱导细胞凋亡等方式保护机体免受由内在或外在刺激引起的内质网应激，此时，病毒为了对抗内质网应激 UPR，已进化出多种策略来调节相关途径，以达到帮助自身复制的目的，这些策略因病毒类型和细胞敏感性的不同而不同，目前我们对于此的认知和研究是相当有限的。在未来的研究中，笔者认为有两个待深入的方向。

(1) 疱疹病毒诱发内质网应激的差异性效应机制是什么？疱疹病毒是一个大的病毒家族，其

不同成员在感染过程中激活的 UPR 所表现出的对病毒感染、复制的影响既有共性，又呈现出 3 种显著的个体差异。根据不同实验室的相关研究可知，病毒诱导内质网应激的差异可能是由于糖基化的分布和数量差异所导致^[57]，携带不同模式（位置、数量、类型等）糖基化侧链的蛋白在内质网合成过程中，被不同的伴侣分子识别，从而进入不同的加工成熟路径，并由此向内质网压力感受系统传导不同水平的压力信号^[58]。笔者推测这一理论可能在疱疹病毒中同样适用，因为与其他病毒相比，疱疹病毒基因组编码多达 11 种不同的囊膜糖蛋白，而这些蛋白在宿主细胞内的加工合成和翻译后修饰必然需要占用大量的内质网资源，极易诱发内质网应激。同时，不同种属疱疹病毒囊膜糖蛋白的糖链的数量和位置又不尽相同，为这些蛋白以不同方式诱导 UPR 提供了理论上和物质上的可能。第二种可能的解释与病毒的非结构蛋白有关。例如，HSV-1 的毒力因子、非结构蛋白 γ 134.5 在促进 eIF2 α 的去磷酸化修饰中发挥重要作用^[59]，并且能够缓解由于 UPR 引起

的细胞蛋白翻译阻滞 (Translation arrest)^[60], 但这一现象在其他疱疹病毒中并不是完全保守的, 因此研究疱疹病毒非结构蛋白的功能可能为明确不同病毒的诱导内质网应激的差异化机制提供线索。

(2) 疱疹病毒诱发的内质网应激与病毒致病性之间有怎样的关系? 内质网应激作为上游事件, 可分别激活细胞自噬和凋亡通路, 并可能导致细胞周期阻滞^[61]。在这些过程中, 自噬对病毒复制的影响 (正向或负向) 和细胞自身的周期变化或死亡最终均会反映到宿主损伤这一表征, 但在此过程中, 疱疹病毒哪些蛋白与 UPR 通路哪些分子发生相互作用? 这种作用与宿主病理损伤的内在联系是什么? 它们之间的调控在时间和空间上遵循着怎样的规律? 细胞发生的凋亡是宿主“牺牲小部分、保全大部分”的自我“妥协”机制 (凋亡的细胞使得病毒失去生存场所), 还是病毒对宿主造成损伤的被动行为? 在潜伏感染中, 病毒和宿主之间依靠哪些因素维持共生平衡? UPR 通路分子在这种平衡中是否发挥作用? 在病毒感染细胞中 UPR 通过何种方式诱发适当的炎症反应? 不同疱疹病毒诱导炎症因子表达的偏好性的分子基础是什么? 这些问题的逐一回答将为深刻理解内质网应激与疱疹病毒致病性之间的内在逻辑提供有价值的线索。

疱疹病毒作为自然界分布最为广泛的病毒之一, 正持续地威胁着人类和其他动物的健康。病毒潜伏感染导致的宿主终身带毒, 以及病毒易于传播的特性, 更造成了严重的经济和社会负担。病毒基因组编码蛋白众多、病毒粒子结构复杂, 感染、免疫机制尚不完全清晰, 使得抗病毒制剂的开发面临一定的挑战。深入研究疱疹病毒诱导感染细胞的内质网应激及其宿主回馈机制, 将为揭示影响病毒复制的关键节点、挖掘新型抗病毒药物作用靶点奠定理论基础。

REFERENCES

- [1] Yoshida H. ER stress and diseases. *The FEBS Journal*, 2007, 274(3): 630-658.
- [2] Mori K. Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell*, 2000, 101(5): 451-454.
- [3] Cao SS, Luo KL, Shi L. Endoplasmic reticulum stress interacts with inflammation in human diseases. *J Cell Physiol*, 2016, 231(2): 288-294.
- [4] Tam AB, Koong AC, Niwa M. Ire1 has distinct catalytic mechanisms for XBP1/HAC1 splicing and RIDD. *Cell Rep*, 2014, 9(3): 850-858.
- [5] Korennykh AV, Korostelev AA, Egea PF, et al. Structural and functional basis for RNA cleavage by Ire1. *BMC Biol*, 2011, 9: 47.
- [6] Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*, 2004, 11(4): 381-389.
- [7] Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(2): 89-102.
- [8] Ye J, Rawson RB, Komuro R, et al. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Mol Cell*, 2000, 6(6): 1355-1364.
- [9] Frabutt DA, Zheng YH. Arms race between enveloped viruses and the host ERAD machinery. *Viruses*, 2016, 8(9).
- [10] Kim I, Xu W, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(12): 1013-1030.
- [11] Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*, 2008, 454(7203): 455-462.
- [12] Zhang L, Wang A. Virus-induced ER stress and the unfolded protein response. *Front Plant Sci*, 2012, 3: 293.
- [13] Meusser B, Hirsch C, Jarosch E, et al. ERAD: the long road to destruction. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(8): 766-772.
- [14] Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(3): 184-190.

- [15] Zhao L, Ackerman SL. Endoplasmic reticulum stress in health and disease. *Curr Opin Cell Biol*, 2006, 18(4): 444-452.
- [16] Yorimitsu T, Nair U, Yang Z, et al. Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy. *J Biol Chem*, 2006, 281(40): 30299-30304.
- [17] Li S, Kong L, Yu X. The expanding roles of endoplasmic reticulum stress in virus replication and pathogenesis. *Crit Rev Microbiol*, 2015, 41(2): 150-164.
- [18] Pomeranz LE, Reynolds AE, Hengartner CJ. Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2005, 69(3): 462-500.
- [19] Kukhanova MK, Korovina AN, Kochetkov SN. Human herpes simplex virus: life cycle and development of inhibitors. *Biochemistry (Mosc)*, 2014, 79(13): 1635-1652.
- [20] Antinone SE, Shubeita GT, Collier KE, et al. The herpesvirus capsid surface protein, VP26, and the majority of the tegument proteins are dispensable for capsid transport toward the nucleus. *J Virol*, 2006, 80(11): 5494-5498.
- [21] Handler CG, Eisenberg RJ, Cohen GH. Oligomeric structure of glycoproteins in herpes simplex virus type 1. *J Virol*, 1996, 70(9): 6067-6070.
- [22] Burnett HF, Audas TE, Liang G, et al. Herpes simplex virus-1 disarms the unfolded protein response in the early stages of infection. *Cell Stress Chaperones*, 2012, 17(4): 473-483.
- [23] Mulvey M, Arias C, Mohr I. Maintenance of endoplasmic reticulum (ER) homeostasis in herpes simplex virus type 1-infected cells through the association of a viral glycoprotein with PERK, a cellular ER stress sensor. *J Virol*, 2007, 81(7): 3377-3390.
- [24] Cassady KA, Gross M, Roizman B. The herpes simplex virus US11 protein effectively compensates for the gamma1(34.5) gene if present before activation of protein kinase R by precluding its phosphorylation and that of the alpha subunit of eukaryotic translation initiation factor 2. *J Virol*, 1998, 72(11): 8620-8626.
- [25] Mulvey M, Poppers J, Sternberg D, et al. Regulation of eIF2alpha phosphorylation by different functions that act during discrete phases in the herpes simplex virus type 1 life cycle. *J Virol*, 2003, 77(20): 10917-10928.
- [26] Zhang P, Su C, Jiang Z, et al. Herpes simplex virus 1 UL41 protein suppresses the IRE1/XBP1 signal pathway of the unfolded protein response via its RNase activity. *J Virol*, 2017, 91(4).
- [27] Lin JH, Li H, Yasumura D, et al. IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response. *Science*, 2007, 318(5852): 944-949.
- [28] Yang S, Zhu J, Zhou X, et al. Induction of the unfolded protein response (UPR) during pseudorabies virus infection. *Vet Microbiol*, 2019, 239: 108485.
- [29] Neerukonda SN, Katneni UK, Bott M, et al. Induction of the unfolded protein response (UPR) during Marek's disease virus (MDV) infection. *Virology*, 2018, 522: 1-12.
- [30] Reinke AW, Grigoryan G, Keating AE. Identification of bZIP interaction partners of viral proteins HBZ, MEQ, BZLF1, and K-bZIP using coiled-coil arrays. *Biochemistry*, 2010, 49(9): 1985-1997.
- [31] Haunshi S, Cheng HH. Differential expression of Toll-like receptor pathway genes in chicken embryo fibroblasts from chickens resistant and susceptible to Marek's disease. *Poult Sci*, 2014, 93(3): 550-555.
- [32] Yang Q, Wei P, Chen H. Cytokine responses and inducible nitrous oxide synthase expression patterns in neonatal chicken brain microglia infected with very virulent Marek's disease virus strain YL040920. *Vet Immunol Immunopathol*, 2011, 142(1/2): 14-24.
- [33] Deng J, Lu PD, Zhang Y, et al. Translational repression mediates activation of nuclear factor kappa B by phosphorylated translation initiation factor 2. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(23): 10161-10168.
- [34] Jarosinski KW, Njaa BL, O'Connell PH, et al. Pro-inflammatory responses in chicken spleen and brain tissues after infection with very virulent plus

- Marek's disease virus. *Viral Immunol*, 2005, 18(1): 148-161.
- [35] Yin H, Zhao L, Jiang X, et al. DEV induce autophagy via the endoplasmic reticulum stress related unfolded protein response. *PLoS ONE*, 2017, 12(12): e0189704.
- [36] Yin HC, Zhao LL, Li SQ, et al. Autophagy activated by duck enteritis virus infection positively affects its replication. *J Gen Virol*, 2017, 98(3): 486-495.
- [37] Wilson SJ, Tsao EH, Webb BL, et al. X box binding protein XBP-1s transactivates the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) ORF50 promoter, linking plasma cell differentiation to KSHV reactivation from latency. *J Virol*, 2007, 81(24): 13578-13586.
- [38] Shigemi Z, Baba Y, Hara N, et al. Effects of ER stress on unfolded protein responses, cell survival, and viral replication in primary effusion lymphoma. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(3): 565-572.
- [39] Johnston BP, Pringle ES, McCormick C. KSHV activates unfolded protein response sensors but suppresses downstream transcriptional responses to support lytic replication. *PLoS Pathog*, 2019, 15(12): e1008185.
- [40] Leung HJ, Duran EM, Kurtoglu M, et al. Activation of the unfolded protein response by 2-deoxy-D-glucose inhibits Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus replication and gene expression. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(11): 5794-5803.
- [41] Chang PJ, Hung CH, Wang SS, et al. Identification and characterization of two novel spliced genes located in the orf47-orf46-orf45 gene locus of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J Virol*, 2014, 88(17): 10092-10109.
- [42] Buchkovich NJ, Maguire TG, Yu Y, et al. Human cytomegalovirus specifically controls the levels of the endoplasmic reticulum chaperone BiP/GRP78, which is required for virion assembly. *J Virol*, 2008, 82(1): 31-39.
- [43] Isler JA, Skalet AH, Alwine JC. Human cytomegalovirus infection activates and regulates the unfolded protein response. *J Virol*, 2005, 79(11): 6890-6899.
- [44] Frabutt DA, Wang B, Riaz S, et al. Innate sensing of influenza A virus hemagglutinin glycoproteins by the host endoplasmic reticulum (ER) stress pathway triggers a potent antiviral response via ER-associated protein degradation. *J Virol*, 2018, 92(1): e01690-17.
- [45] Siddiquey MNA, Zhang H, Nguyen CC, et al. The human cytomegalovirus endoplasmic reticulum-resident glycoprotein UL148 activates the unfolded protein response. *J Virol*, 2018, 92(20): e00896-18.
- [46] Xuan B, Qian Z, Torigoi E, et al. Human cytomegalovirus protein pUL38 induces ATF4 expression, inhibits persistent JNK phosphorylation, and suppresses endoplasmic reticulum stress-induced cell death. *J Virol*, 2009, 83(8): 3463-3474.
- [47] Stahl S, Burkhart JM, Hinte F, et al. Cytomegalovirus downregulates IRE1 to repress the unfolded protein response. *PLoS Pathog*, 2013, 9(8): e1003544.
- [48] Qian Z, Xuan B, Chapa TJ, et al. Murine cytomegalovirus targets transcription factor ATF4 to exploit the unfolded-protein response. *J Virol*, 2012, 86(12): 6712-6723.
- [49] Carpenter JE, Jackson W, Benetti L, et al. Autophagosome formation during varicella-zoster virus infection following endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response. *J Virol*, 2011, 85(18): 9414-9424.
- [50] Carpenter JE, Grose C. Varicella-zoster virus glycoprotein expression differentially induces the unfolded protein response in infected cells. *Front Microbiol*, 2014, 5: 322.
- [51] Lam N, Sandberg ML, Sugden B. High physiological levels of LMP1 result in phosphorylation of eIF2 alpha in Epstein-Barr virus-infected cells. *J Virol*, 2004, 78(4): 1657-1664.
- [52] Lee DY, Sugden B. The LMP1 oncogene of EBV activates PERK and the unfolded protein response to

- drive its own synthesis. *Blood*, 2008, 111(4): 2280-2289.
- [53] Pratt ZL, Zhang J, Sugden B. The latent membrane protein 1 (LMP1) oncogene of Epstein-Barr virus can simultaneously induce and inhibit apoptosis in B cells. *J Virol*, 2012, 86(8): 4380-4393.
- [54] Lee DY, Sugden B. The latent membrane protein 1 oncogene modifies B-cell physiology by regulating autophagy. *Oncogene*, 2008, 27(20): 2833-2842.
- [55] Bhende PM, Dickerson SJ, Sun X, et al. X-box-binding protein 1 activates lytic Epstein-Barr virus gene expression in combination with protein kinase D. *J Virol*, 2007, 81(14): 7363-7370.
- [56] Taylor GM, Raghuwanshi SK, Rowe DT, et al. Endoplasmic reticulum stress causes EBV lytic replication. *Blood*, 2011, 118(20): 5528-5539.
- [57] Hebert DN, Zhang JX, Chen W, et al. The number and location of glycans on influenza hemagglutinin determine folding and association with calnexin and calreticulin. *J Cell Biol*, 1997, 139(3): 613-623.
- [58] Cherepanova N, Shrimal S, Gilmore R. N-linked glycosylation and homeostasis of the endoplasmic reticulum. *Curr Opin Cell Biol*, 2016, 41: 57-65.
- [59] He B, Gross M, Roizman B. The gamma(1)34.5 protein of herpes simplex virus 1 complexes with protein phosphatase 1alpha to dephosphorylate the alpha subunit of the eukaryotic translation initiation factor 2 and preclude the shutoff of protein synthesis by double-stranded RNA-activated protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(3): 843-848.
- [60] Cheng G, Feng Z, He B. Herpes simplex virus 1 infection activates the endoplasmic reticulum resident kinase PERK and mediates eIF-2alpha dephosphorylation by the gamma(1)34.5 protein. *J Virol*, 2005, 79(3): 1379-1388.
- [61] Brewer JW, Diehl JA. PERK mediates cell-cycle exit during the mammalian unfolded protein response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(23): 12625-12630.

(本文责编 郝丽芳)