www.scichina.com

life.scichina.com



快报

甲型 H1N1/2009 流感病毒的种属跨越机制

刘鑫. 赵亚溥*

中国科学院力学研究所,非线性力学国家重点实验室,北京 100190

* 联系人, E-mail: yzhao@imech.ac.cn

收稿日期: 2009-05-12; 接受日期: 2009-06-09

国家自然科学基金(批准号: 10704077)、 国家高技术研究发展计划(批准号: 2007AA021803)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2007CB310500)资助项目

摘要 在世界范围流行的甲型 H1N1/2009 流感病毒具有下述 3 个重要特征:可寄生于人体,易感人群很多,患者年龄偏低.本研究确定了病毒蛋白中的一块关键区域.该区域对病毒所寄生的物种的种属范围起决定性作用,并且是全球性流感病毒的一个标志性区域.正是该区域氨基酸的特性导致了上述 3 个特点.具体来说,对宿主的免疫系统而言,病毒蛋白质结构的变化会形成新的标靶结构,并且可以进一步导致宿主范围的变化.基于多肽链发生致病性结构转换的概率,本研究确定了甲型流感病毒中对控制宿主范围起决定性作用的氨基酸的位置.研究发现甲型 H1N1/2009 流感病毒中处于这些位点的多肽链在本质上可以在寄生于人的毒株中表达,而之前仅在宿主为禽、猪的毒株中被发现.其与另一氨基酸短串的协同构象改变对于甲型 H1N1/2009 流感病毒的种属跨越具有重要作用.人体对这些关键位点的免疫缺陷导致了甲型 H1N1/2009 流感病毒宿主人群多和青年人易致病的特点.

关键词

蛋白质构象改变 种属屏障 甲型 HINI 流感 核蛋白

当前,甲型 H1N1/2009 流感正引起全球的关注和警惕. 世界卫生组织对其警告的级别已提升至最高——全球流行,为 41 年来的首次. 自其爆发两个多月以来,尽管卫生部门采取了各种应对措施,但其扩散的势头依旧强劲. 截至 2009 年 7 月 6 日,在世界范围内已引起 94512 患病,429 人死亡. 由于该流感已经在即将进入流感多发季节的南半球开始蔓延,且病毒存在变异的可能,人类的健康已经受到严重威胁.

甲型 H1N1/2009 流感病毒是北美猪流感、禽流感和欧亚猪流感的复合毒株^[1]. 其危险性首先在于它已经跨越了种属屏障,可以在人群中传播. 本文将讨论该病毒跨越种属屏障的一种机制.

在整个生命周期中,病毒的复制需要适当的生理环境,这直接影响到病毒在宿主中的存活能力.因此,与病毒复制有关的蛋白都与宿主特异性相关,如

NP, M1, PA, PB1, PB2 等. 特别是与病毒 RNA 相连接、并以核糖核蛋白的形式与聚合酶(PA, PB1, PB2) 一起参与病毒复制的核蛋白(NP)更具有重要的作用^[2,3]. 由于与规避人体内的细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)、从而逃避宿主的免疫攻击直接相关^[4,5], NP 蛋白被认为对控制宿主范围起决定性的作用^[6].

1 研究基础

NP 蛋白的结构对于宿主限制性具有重要作用^[6]. 随着蛋白结构的改变,病毒所面临的免疫压力也随之改变,从而引起宿主范围的变化,表明对结构改变有重要作用的位点对病毒宿主的限制性也同样重要,即二者之间存在映射关系. 在蛋白结构改变的过程中,错折叠会首先发生在对天然结构的稳定性起重要作用的区域. 这种区域性的错折叠会使正常结构

引用格式: 刘鑫, 赵亚溥. 甲型 H1N1/2009 流感病毒的种属跨越机制. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2009, 39(7): 643—646

失去稳定性,并导致后续的错折叠路径.结构变化第一阶段所发生的区域如同结构转换的开关一样,非常重要.本研究组曾开发了一种算法,利用短肽段由天然结构跳变到错误结构的概率来预测此种具有开关性质的位点,该算法具有 93%的高精度^[7].本研究利用此方法来确定对甲型 H1N1 流感病毒的宿主限制性具有重要作用的位点.

2 宿主变迁的原因

NP 蛋白中对结构改变起重要作用的位点由蛋白质三维结构数据 PDB: 2IQH_A 计算而得. 该蛋白与毒株 A/California/04/2009 的 NP 蛋白有 83%的高度同源性. 因此, 在甲型 H1N1/2009 流感病毒的 NP 中,对结构转换有重要作用的位点应当与其相似. 如图 1 所示, NP 蛋白中引起结构转换概率高的残基区域有两个最为突出(b 片段和 d 片段). 当前病毒的肽段b(DPRMCSLMQGSTLPR)已经在可寄生于包括人在内的多种宿主的毒株中存在了很多年(利用 Blast^[8]在 NCBI 数据库中搜索而得). 由于常年受季节性流感的

袭扰,多数健康人对流感病毒具有免疫记忆. 当前的种属跨越应不是因对这种人体已熟识的肽段的记忆失效造成的,可不予考虑. 如图 1 所示,在健康人群中,此肽段属于记忆性T细胞所识别的抗原决定基^[9],已处于免疫监控之下.

但在本次流感爆发之前,d 所对应的肽段(TRGVQIASNENVETM)只在宿主为禽和猪的病毒中出现过. 此肽段对于人来说是一种新的免疫标靶,有引起宿主变迁的可能. 事实上,将研究的重点集中在d 区域,其正确性是有临床依据的. 如图 1 所示,d 所属的区域富含一些对病毒进化起重要作用的位点(phylogenetically important regions, PIRs). 这种 PIR位点是 NP蛋白中具有宿主特异性的功能区,对宿主的选择性有重要作用[10]. 同时,如表 1 所示,d(TRGVQIASNENVETM)可被视为一种潜在的人毒株片段. 它所有的单残基突变体都曾经被宿主为人的毒株表达过.

作为一个主要属于禽和猪毒株系的片段,导致 A/H1N1/2009 d 的局域结构向人毒株系转化是有一

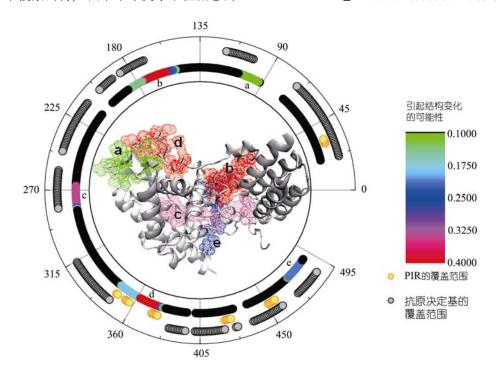


图 1 对核蛋白分析的结果

肽段 b 和 d 引起结构变化的可能性最高; 肽段 d 所处区域富含 PIR(决定进化发生树的关键区域, 金色表示), 且缺乏抗原决定基(灰色表示); 相较 c 和 e, a 与 d 距离最近且直接黏附, 相互影响最大

644

定诱因的. 从 NP 的结构(图 1)来看, 片段 a(GPIYRRVDGKWMREL)与 d 最近, 且直接黏附在一起, 尤其是与片段 d 中对宿主敏感的羧基端残基(此处的残基属于 PIR 位点)黏附更为紧密, 具备影响

宿主限制性的能力. 另外, 片段 a 又有较高的引发结构转换的概率, 具备参与蛋白结构变化的能力. 同时该片段主要属于人毒株系(少数为猪毒株系), 具备诱发 d 向人毒株系转化的条件. 因此 d 和 a 的协同结构

表 1 所有表达过甲型 H1N1/2009 流感病毒的片段 d 所对应单残基突变体的人毒株

片段 d	病毒株	宿主类型	附注	流行时间	流行地域
TRGVQIASNENVETM	A/California/04/2009(H1N1)				
TRGVQIASNEN- VEaM	A/New Jersey/8/ 1976 (H1N1)	主要为猪, 少部分为人、禽	于 1976年, 其在美国曾导致了一次短 暂的大流行	1957~2000	全球
	A/Wisconsin/3523/1988(H1N1)	人	来自人疫苗	1980s	北美
	A/Maryland/12/1991(H1N1)	人	来自人疫苗	1990s	北美
	A/Wisconsin/10/98 (H1N1)	少部分为人	为人、禽、猪毒株的复合毒株	1998	北美
	A/Iowa/CEID23/2005(H1N1)	主要为猪, 少部分为人	为人、禽、猪毒株的复合毒株	2005	北美
	A/Hong Kong/1073/99(H9N2)	主要为禽, 少部分为人	禽流感病毒	1999	中国南方
	A/Hong Kong/156/97(H5N1)	主要为禽, 少部分为人	禽流感病毒	1997~2009	东南亚
TRGVQIASNENmETM	A/Brevig Mission/1/1918(H1N1)	猪、人	属禽流感病毒, 曾导致 1918 年"西班 牙"流感全球大流行	1918	全球
	A/Wilson-Smith/1933(H1N1)	人	首个成功分离于人体的病毒	1933	全球
	A/Puerto Rico/8/34(H1N1)	人	某些病毒在20世纪80,90年代被成功 分离	主要为: 1930s	全球
	A/Melbourne/ 35 (H1N1) A/Henry/ 1936 (H1N1)	人	病毒 A/Puerto Rico/8/34(H1N1)的近同 源毒株	主要为: 1930s	全球
	A/Bel/ 1942 (H1N1)	人	该病毒曾意外地在 20 世纪 90 年代于 英格兰的一头猪体内被分离	1942~1985	全球
	A/Iowa/ 1943 (H1N1)	人	病毒 A/Puerto Rico/8/34(H1N1)的近同 源毒株	1943~1985	全球
	A/Mongolia/231/ 85 (H1N1) A/Mongolia/153/ 88 (H1N1)	人	毒株 A/Puerto Rico/8/34(H1N1) 和 A/USSR/77(H1N1)的复合株	1980~1988	全球
	A/Mongolia/111/91(H1N1)	人	病毒 A/Puerto Rico/8/34(H1N1)的近同 源毒株	1991	蒙古
	A/Switzerland/8808/2002(H1N1)	少部分为人	猪流感病毒	2002	瑞士
	A/Thailand/271/2005(H1N1)	主要为猪, 少部分为人	北美和东南亚猪流感病毒的复合毒株	2005	欧亚大陆
	A/Philippines/344/2004(H1N2)	少部分为人	H3N2 型与古典 H1N1 型猪流感病毒的复合毒株发生进一步混合的产物	2004	欧亚大陆
	A/Victoria/1968(H3N2)	人	导致 1968 流感全球大流行	1968~2009	全球
	A/Hong Kong/1774/99(H3N2)	少部分为人	人流感病毒与欧亚大陆禽病毒株系的 复合毒株	1999	欧亚大陆
	A/human/Zhejiang/16/2006(H5N1)	主要为禽, 少部分为人	禽流感病毒	1997~2009	东南亚

a) 毒株来自 NCBI 数据库中的前 5000 条,基于 BLAST 算法的 E-value 值排列.一些冗余的毒株未列出.如粗体部分所示,本文所涉及的特异性的 d 片段与全球性 H1N1 流感密切相关,为一类标志性肽段.但自 1988 年起,拥有此类肽段的病毒没有发生过全球流行

改变可能是种属跨越的诱因.与此对应,利用GPIYRRVDGKWMREL-TRGVQIASNENVETM 在NCBI 数据库中查询,发现 d 和 a 的联合序列在此次大爆发前从没有出现过.

3 决定性肽段的临床表现及其与全球性流感间的关系

除了宿主限制性, 甲型 H1N1/2009 流感的一些特性也与其片段 d 有关. 如图 1 所示, 在健康人群中, 很多人在片段 d 所属的区域及其附近的区域没有对应的抗原决定基^[9]. 因而对于新标靶 A/H1N1/2009_d 没有由记忆性 T细胞所介导的免疫反应, 导致本次流感具有宿主人群多的特性. 该标靶的近同源肽段曾

经被很多古典人毒株表达过. 并且它可以通过对应于该区域的抗原决定基来唤起免疫记忆^[11]. 但如表 1 所示,拥有这些近同源肽段的毒株已经很久没有发生全球流行.由于缺乏刺激源,很多青年人没有免疫记忆. 这可能是青年人易致病的原因. 应开发针对区域 d 的疫苗以抗击甲型 H1N1/2009 流感病毒及其衍生型病毒,并抵御古典毒株及在 NP 蛋白中有相似特点的混合毒株的攻击.

本研究指出了对决定宿主限制性最重要的蛋白中的最重要的位点,并据此解释了形成甲型H1N1/2009流感某些具体特性的原因.这些位点与多次典型的流感全球大爆发密切相关,在原因上具有相通性,是全球性流感病毒的标志性肽段.

参考文献 _

- 1 Garten R J, Davis C T, Russell C A, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 Λ(H1N1) influenza viruses circulating in humans. Science, 2009, DOI: 10.1126/science.1176225
- 2 Snyder M H, Buckler-White A J, London W T, et al. The avian influenza virus nucleoprotein gene and a specific constellation of avian and human virus polymerase genes each specify attenuation of avian-human influenza A/Pintail/79 reassortant viruses for monkeys. J Virol, 1987, 61: 2857—2863
- 3 Finkelstein D B, Mukatira S, Mehta P K, et al. Persistent host markers in pandemic and H5N1 influenza viruses. J Virol, 2007, 81: 10292—10299
- 4 Berkhoff E G, de Wit E, Geelhoed-Mieras M M, et al. Functional constraints of influenza A virus epitopes limit escape from cytotoxic T lymphocytes. J Virol, 2005, 79: 11239—11246
- 5 Berkhoff E G, Boon A C, Nieuwkoop N J, et al. A mutation in the HLA-B*2705-restricted NP383-391 epitope affects the human influenza A virus-specific cytotoxic T-lymphocyte response in vitro. J Virol, 2004, 78: 5216—5222
- 6 Scholtissek C, Ludwig S, Fitch W M. Analysis of influenza A virus nucleoproteins for the assessment of molecular genetic mechanisms leading to new phylogenetic virus lineages. Arch Virol, 1993, 131: 237—250
- 7 Liu X, Zhao Y P. Donut-shaped fingerprint in homologous polypeptide relationships- a topological feature related to pathogenic structural changes in conformational disease. J Theor Biol, 2009, 258: 294—301
- 8 Altschul S F, Gish W, Miller W, et al. Basic local alignment search tool. J Mol Biol, 1990, 215: 403—410
- 9 Lee L Y, Ha D L, Simmons C, et al. Memory T cells established by seasonal human influenza A infection cross-react with avian influenza A(H5N1) in healthy individuals. J Clin Invest, 2008, 118: 3478—3490
- Reid A H, Fanning T G, Janczewski T A, et al. Novel origin of the 1918 pandemic influenza virus nucleoprotein gene. J Virol, 2004, 78: 12462—12470
- 11 Townsend A R, Rothbard J, Gotch F M, et al. The epitopes of influenza nucleoprotein recognized by cytotoxic T lymphocytes can be defined with short synthetic peptides. Cell, 1986, 44: 959—968

646