

干扰素诱导跨膜蛋白抗病毒机制研究进展

侯志飞 赵学森

【摘要】干扰素诱导跨膜蛋白(IFITM)是一类新型抗病毒细胞防御分子,其在人体组织细胞中普遍表达,主要定位于质膜、内体及溶酶体中,这些部位是病毒侵入细胞的主要靶点。IFITM通过抑制病毒与宿主细胞间的膜融合,从而限制多种病毒侵染,包括埃博拉病毒、流感病毒、严重急性呼吸综合征(SARS)冠状病毒、登革热病毒、西尼罗病毒和寨卡病毒等。虽然,IFITM已经被证明可以抑制8个病毒科数十种病毒,而且其主要抑制病毒进入阶段的融合过程,但IFITM抗病毒机制尚未明确。近年来IFITM的抗病毒作用及其机制已成为相关领域的研究热点。现就IFITM抗病毒谱及抗病毒机制研究进展作一综述。

【关键词】干扰素诱导跨膜蛋白;病毒侵入;膜融合

Advances in antiviral study on interferon-induced transmembrane protein Hou Zhifei, Zhao Xuesen.
Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China
Corresponding author: Zhao Xuesen, Email: zhaoxuesen@ccmu.edu.cn

【Abstract】 Interferon-induced transmembrane proteins (IFITMs), a class of novel discovered viral restriction factors, are widely expressed in human tissue cells, mainly located in plasma membrane and endolysosomal compartments, which are the main targets of the virus entry. By inhibiting membrane fusion between virus and cell membrane, IFITMs restrict the entry of a broad spectrum of viruses, including Ebola virus, influenza A virus, severe acute respiratory syndromes (SARS) coronavirus, dengue virus, West Nile virus and Zika virus. Although IFITM has been shown to be able to suppress the infection of virus of the eight virus families, and it primarily inhibits the fusion process of the virus entry stage, but the mechanism of IFITM antiviral activity remains unknown. In recent years, the antiviral effect of IFITM and its mechanism has become a hotspot in related fields. Here the recent advance of IFITM's antiviral spectrum and underlying mechanism of how these proteins exert antiviral function were reviewed.

【Key words】 Interferon-induced transmembraneprotein; Viral entry; Membrane fusion

干扰素(interferon, IFN)是预防病原体感染机体的重要防线。当病原体进入机体后,作为干扰素刺激的应答结果,干扰素刺激基因(IFN-stimulated genes, ISGs)通过JAK-STAT信号转导通路被广泛表达,并作用于病毒生命周期的不同阶段发挥抗病毒作用。干扰素诱导跨膜蛋白(interferon-induced transmembrane protein, IFITM)就是这样一类可以广泛抑制病毒感染的ISG。目前,IFITM抑制病毒感染的机制仍然是研究热点,本文就IFITM研究进展进行综述。

一、IFITM的组成及结构

当病毒侵入机体后,IFITM被I型和II型干扰素诱导表达而抑制病毒感染。大多数脊椎动物均含有两个或多个IFITM基因。人类IFITM基因位于11号染色体上,由4个功能

基因组成:IFITM1、IFITM2、IFITM3和IFITM5,而IFITM4p是一个假基因。小鼠IFITM1, Ifitm2, IFITM3和IFITM5位于7号染色体上。此外,小鼠还有另外两个IFITM基因:位于7号染色体上的IFITM6和位于16号染色体上的IFITM7。与人IFITM基因一样,小鼠IFITM4p也是假基因^[1]。其他哺乳动物也有类似基因,包括有袋动物和禽类等^[2]。虽然人类IFITM家族含有5个15~17 kDa的多次跨膜蛋白,但似乎仅有3个蛋白(IFITM1、2和3)起到抗病毒作用。另外IFITM蛋白氨基酸序列高度相似,而且均为膜定位的,但其拓扑结构仍然不明确,目前研究表明,IFITMs蛋白有5个结构域,即N末端结构域(N-terminal domain, NTD)、胞内跨膜内结构域(intramembrane domain, ID)、胞内保守环(conserved intracellular loop, CIL)、跨膜结构域(transmembrane domain, TD)、C末端结构域(C-terminal domain, CTD),且NTD和CIL结构域位于细胞质而CTD位于胞外,于是有学者提出IFITMs属于II型跨膜拓扑结构学说^[3]。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.03.002

基金项目:国家自然科学基金(No. 81571976)

作者单位:100015 北京,首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所

通信作者:赵学森, Email: zhaoxuesen@ccmu.edu.cn

二、IFITM的细胞定位、表达及功能

不同的IFITM蛋白可能在细胞内的定位也有所不同。IFITM1主要在质膜,而IFITM2和IFITM3主要位于细胞内相关区室。通过与内体标志物(Lamp1、Rab7和CD63)共标记研究表明,IFITM3主要存在早期和晚期内体中,但IFITM2的位置尚有待明确^[4-6]。迄今为止IFITM亚细胞定位研究大部分使用相应的标记蛋白,其中标记或过表达可能会对蛋白定位或检测有影响。John等^[4]研究表明IFITM3可以与其自身以及IFITM1或IFITM2相互作用,且该相互作用需要苯丙氨酸残基,Zhao等^[7]研究也得到相同结果。虽然这种关联的意义尚未明确,但IFITM同源寡聚物或异源寡聚物的形成也可能影响这些蛋白的分布和功能。在非IFN诱导的情况下,原代组织和细胞均表达IFITM,并且人IFITM1、IFITM2和IFITM3在上皮细胞和内皮细胞中普遍存在,而IFITM5主要在成骨细胞表达。这4种人IFITM蛋白的表达均受到I型和II型IFN的显著诱导。在小鼠中,IFN显著诱导IFITM3表达,而其他IFITM对IFN应答反应较差。IFITM蛋白在不同生物学进程中发挥着重要作用,如免疫细胞信号转导,生殖细胞归巢和成熟以及骨矿化等^[8]。近年来,IFITM蛋白抗病毒功能机制研究是固有免疫领域研究的热点^[9]。

三、IFITM的抗病毒谱及抗病毒机制

IFITM蛋白首先于1991年被鉴定出来,经过将近20年的研究,于2009年发现其具有显著抗病毒作用,即有效抑制流感病毒(Influenza A virus, IAV)感染^[10]。自此以后IFITM被大量文献报道能够抑制多种不同病毒:登革热病毒(dengue virus, DNV)^[10]、西尼罗病毒(West Nile virus, WNV)^[10]、严重急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)^[11]、埃博拉病毒(Ebola virus, EBOV)^[11]、马尔堡病毒(Marburg virus, MARV)^[11]、中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)、人类免疫缺陷病毒-1(human immunodeficiency virus 1, HIV-1)^[12]、黄热病毒(yellow fever virus, YFV)^[13]、水泡性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)^[14]和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)^[15]等(见表1)。至目前为止,IFITM被证明可以抑制8个病毒科数十种病毒,而且其主要抑制病毒进入阶段的融合过程,但并不仅局限于此^[11-17]。

因IFITM3主要在晚期内体和溶酶体中聚集,受IFITM3表达影响较大的病毒就是那些需要转运到这些亚细胞器来侵入细胞的病毒(图1)。虽然此为ISGs抑制病毒的常见特征,但IFITM家族蛋白间对其所抑制的相同病毒也具有选择性。IFITM抑制不同病毒的能力有所不同,且其家族蛋白间对同一种病毒的抑制能力也存在差异。如IFITM3较IFITM1能更好地抑制SARS、Ebola和Marburg病毒^[11]。且较IFITM1/2、IFITM3对IAV有更高的抑制率;但PIV3被IFITM1抑制良好,却不被IFITM2/3抑制^[18]。IFITM对HIV-1的抑制稍微复杂一些,研究表明IFITM蛋白是抑制HIV-1侵染细胞的重要防御分子。其中,IFITM1抑制HIV-1在质膜发生的侵入,并能抑制病毒复制;而IFITM2/3抑制病毒内化后在细胞内体的侵入^[12, 19]。IFITM对病毒限制的不同特征可能部分因细胞定位差异和翻译后修饰(post translational modification, PTM)所决定,被S-棕榈酰化(S-palmitoylation)、泛素化(ubiquitination)或甲基化(methylation)修饰过的IFITM3,很有可能影响其膜定位和拓扑构象^[20-21]。此外,IFITM蛋白的膜拓扑结构可能动态变化,且家族成员间也有所不同。

已有文献报道IFITM3除抑制多种包膜蛋白病毒外,还能抑制非包膜蛋白的呼肠孤病毒感染^[17],此发现可能有助于改进或扩大目前的抗病毒假说:一种假说认为IFITM会改变酸性内体的微环境,潜在地增加非特异性蛋白酶活性或以其他方式干扰病毒进入机体的正常过程。这可以解释IFITM对包膜和非包膜病毒均具有抑制作用的原因。另外,IFITM可能潜在地影响细胞膜的性质,如改变曲率和降低膜流动性,或在膜形成半融合前就已经抑制病毒的进入等^[22],还有学说认为IFITM可能促进内涵体或溶酶体内胆固醇聚集,从而抑制病毒的感染^[6]。虽然呼肠孤病毒和其他非包膜蛋白病毒都不会发生膜融合,但病毒必须穿过膜才能进入细胞发生感染,因此膜的物理变化也可能会影响这一过程。但这些学说均无法解释IFITM2/3促进人类冠状病毒OC43(human coronavirus OC43, HCoV-OC43)感染的机制^[7],故也有研究推测IFITM通过与其他蛋白分子相互作用进而调控相关病毒的感染。

四、IFITM功能转换及其下游蛋白

2014年之前,科研人员对IFITM的认识局限在其仅仅是病毒的限制因子,直到Zhao等^[7]研究证实IFITM2/3显著

表1 IFITM1/2/3 抗病毒谱及其机制

| 基因名称 | 诱导类型 | 细胞定位 | 主要表达细胞 | 作用机制 | 抑制主要病毒 | 促进病毒 |
|--------|------------------|---------------------|---------------|----------------|---|---------------|
| IFITM1 | I型IFN、 II型IFN | 细胞膜 | 上皮细胞、 内皮细胞 | 抑制病毒与 细胞膜融合 | HCV、PIV3、SARS-CoV、MARV、 EBOV、DNV、IAV、HIV、WNV | 无 |
| IFITM2 | I型IFN、 II型IFN | 可能早期内体、 晚期内体、溶酶体 | 上皮细胞、 内皮细胞 | 抑制病毒与 细胞膜融合 | MERS-CoV、SARS-CoV、VSV、IAV、 MARV、EBOV、DNV、WNV、HIV | HCoV- OC43 |
| IFITM3 | I型IFN、 II型IFN | 早期内体、 晚期内体、溶酶体 | 上皮细胞、 内皮细胞 | 抑制病毒与 细胞膜融合 | MERS-CoV、SARS-CoV、VSV、IAV、 MARV、EBOV、DNV、WNV、HIV | HCoV- OC43 |

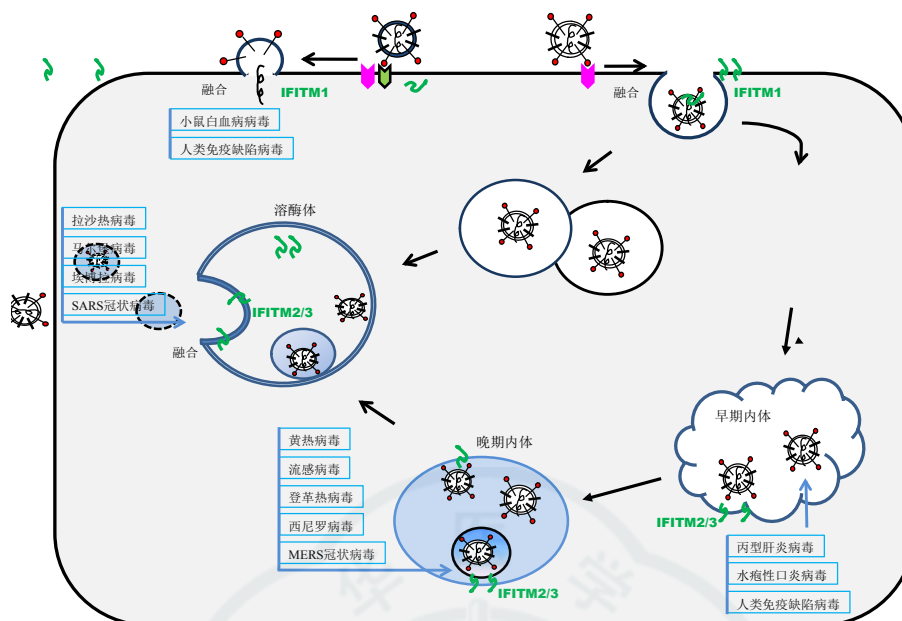


图1 IFITM1/2/3的抗病毒机制

促进人类冠状病毒OC43感染后,才意识到IFITM更可能是病毒侵入的调控因子。相对于IFITM1,IFITM3蛋白具有较长的NTD,当IFITM3的N末端缺失21个氨基酸残基时,其内体定位减少,而更多定位于细胞膜或其周边^[23]。IFITM3单核苷酸生物多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)的差异使IFITM3 mRNA剪接位点发生改变,产生从N末端缺少21个氨基酸残基的IFITM3,即rs12252-C IFITM3。研究发现IFITM3患者和rs12252-C IFITM3患者对疾病进程有显著差异,rs12252-C IFITM3重症患者对H1N1的抵抗能力更弱,疾病预后相差更,病死率较高^[24-25]。

虽然IFITM主要在晚期内体和溶酶体发挥抗病毒作用,但机制尚不明确。Fu等^[26]报道IFITM是通过锌金属肽酶STE24(Zinc metallopeptidase STE24, ZMPSTE24)发挥抗病毒作用,并且过表达ZMPSTE24能够特异性抑制具有包膜蛋白病毒,包括流感病毒、寨卡病毒、埃博拉病毒、辛德宾病毒、水泡性口炎病毒和牛痘B病毒等感染。体外实验证明敲除ZMPSTE24后,IFITM失去其广泛的抗病毒作用;体内实验表明,ZMPSTE24缺陷型小鼠感染流感后,病毒载量增高,病死率增加。虽然该实验证实IFITM通过招募下游ZMPSTE24发挥作用,但ZMPSTE24又是通过招募哪些蛋白或是如何与IFITM相互作用进而调控病毒感染仍需进一步研究。

五、展望

大量文献报道IFITM在抗病毒固有免疫中的重要性,但也有相关文献推测其可能影响病原体的识别,信号转导,细胞黏附、迁移、增殖等过程。既然rs12252-C IFITM3对H1N1感染的抑制作用较野生型更弱,那么有可能

rs12252-C IFITM3对SARS冠状病毒和MERS冠状病毒等病毒的抑制能力也较弱。因此,对rs12252-C IFITM3抑制上述冠状病毒感染的研究十分必要。据WHO统计显示,2003年暴发的SARS全球累计病例8 422例,涉及32个国家和地区,死亡775例,病死率为9.6%;2012年暴发的MERS全球累计病例909例,死亡331例,病死率高达36%。IFITM具有广泛的抗病毒功能,因此IFITM可能作为药物研发靶点,人源性的IFITM增强剂就有可能作为一种有效的新型抗病毒药物,应用于临床治疗更多病毒感染患者。

参考文献

- [1] Hickford D, Frankenberg S, Shaw G, et al. Evolution of vertebrate interferon inducible transmembrane proteins[J]. BMC Genomics,2012,13(1):155.
- [2] Smith SE, Weston S, Kellam P, et al. IFITM proteins-cellular inhibitors of viral entry[J]. Curr Opin Virol,2014,4(2):71-77.
- [3] Bailey CC, Kondur HR, Huang I, et al. Interferon-induced transmembrane protein 3 is a type II transmembrane protein[J]. J Biol Chem,2013,288(45):32184-32193.
- [4] John SP, Chin CR, Perreira JM, et al. The CD225 domain of IFITM3 is required for both IFITM protein association and inhibition of influenza A virus and dengue virus replication[J]. J Virol,2013,87(14):7837-7852.
- [5] Feeley EM, Sims JS, John SP, et al. IFITM3 inhibits influenza A virus infection by preventing cytosolic entry[J]. PLoS Pathog, 2011,7(10):e1002337.
- [6] Amini-Bavil-Olyae S, Choi YJ, Lee JH, et al. The antiviral effector IFITM3 disrupts intracellular cholesterol homeostasis to block viral entry[J]. Cell Host Microbe,2013,13(4):452-464.
- [7] Zhao X, Guo F, Liu F, et al. Interferon induction of IFITM proteins promotes infection by human coronavirus OC43[J]. Proc Natl Acad

- Sci USA,2014,111(18):6756-6761.
- [8] Diamond MS, Farzan M. The broad-spectrum antiviral functions of IFIT and IFITM proteins[J]. Nat Rev Immunol,2013,13(1):46-57.
- [9] Gerlach T, Hensen L, Matrosovich T, et al. Ph-optimum of hemagglutinin-mediated membrane fusion determines sensitivity of influenza A viruses to the interferon-induced antiviral state and IFITMs[J]. J Virol,2017,91(11):e00246-17.
- [10] Brass AL, Huang IC, Benita Y, et al. The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus[J]. Cell,2009,139(7):1243-1254.
- [11] Huang IC, Bailey CC, Weyer JL, et al. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus[J]. PLoS Pathog,2011,7(1):e1001258.
- [12] Lu J, Pan Q, Rong L, et al. The IFITM proteins inhibit HIV-1 infection[J]. J Virol,2011,85(5):2126-2137.
- [13] Schoggins JW, Wilson SJ, Panis M, et al. A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response[J]. Nature,2011,472(7344):481-485.
- [14] Weidner JM, Jiang D, Pan XB, et al. Interferon-induced cell membrane proteins, IFITM3 and tetherin, inhibit vesicular stomatitis virus infection via distinct mechanisms[J]. J Virol,2010,84(24):12646-12657.
- [15] Wilkins C, Woodward J, Lau D T, et al. IFITM1 is a tight junction protein that inhibits hepatitis C virus entry[J]. Hepatology, 2013,57(2):461-469.
- [16] Chan YK, Huang IC, and Farzan M. IFITM proteins restrict antibody-dependent enhancement of dengue virus infection[J]. PLoS One,2012,7(3):e34508.
- [17] Anafu AA, Bowen CH, Chin CR, et al. Interferon-inducible transmembrane protein 3 (IFITM3) restricts reovirus cell entry[J]. J Biol Chem,2013,288(24):17261-17271.
- [18] Rabbani MA, Ribaud M, Guo JT, et al. Identification of interferon-stimulated gene proteins that inhibit human parainfluenza virus type 3[J]. J Virol,2016,90(24):11145-11156.
- [19] Foster T, Wilson H, Iyer S, et al. Resistance of transmitted founder HIV-1 to IFITM-mediated restriction[J]. Cell Host Microbe,2016,20(4):429-442.
- [20] Yount JS, Moltedo B, Yang YY, et al. Palmitoylome profiling reveals S-palmitoylation-dependent antiviral activity of IFITM3[J]. Nat Chem Biol,2010,6(8):610-614.
- [21] Yount JS, Karssemeijer RA, and Hang HC. S-palmitoylation and ubiquitination differentially regulate interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3)-mediated resistance to influenza virus[J]. J Biol Chem,2012,287(23):19631-19641.
- [22] Li K, Markosyan RM, Zheng YM, et al. IFITM proteins restrict viral membrane hemifusion[J]. PLoS Pathog,2013,9(1):e1003124.
- [23] Jia R, Pan Q, Ding S, et al. The N-terminal region of IFITM3 modulates its antiviral activity by regulating IFITM3 cellular localization[J]. J Virol,2012,86(24):13697-13707.
- [24] Everitt AR, Clare S, Pertel T, et al. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza[J]. Nature,2012,484(7395):519-523.
- [25] Zhang YH, Zhao Y, Li N, et al. Interferon-induced transmembrane protein-3 genetic variant rs12252-c is associated with severe influenza in chinese individuals[J]. Nat Commun,2011,4(1):1418.
- [26] Fu B, Wang L, Li S, et al. ZMPSTE24 defends against influenza and other pathogenic viruses[J]. J Exp Med,2017,214(4):919-929.
- (收稿日期: 2017-07-10)
(本文编辑: 孙荣华)

侯志飞, 赵学森. 干扰素诱导跨膜蛋白抗病毒机制研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018,12(3):212-215.