

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00425

B族I型清道夫受体在丙型肝炎病毒入侵细胞中的作用

徐庆强, 戚中田*

第二军医大学基础部微生物学教研室, 上海市医学生物防护重点实验室, 上海 200433

[摘要] 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)入侵宿主细胞是由多种受体分子介导的多步骤过程, 其中B族I型清道夫受体(SR-B I /SCARB1)被认为是最先与HCV作用的受体。SR-B I能够与HCV包膜糖蛋白E2相结合, 在此过程中位于E2蛋白氨基末端的高变区1(hypervariable region 1, HVR1)起关键作用。SR-B I与HCV的相互作用不仅能够介导HCV的细胞入侵, 还能降低抗体对HCV的中和作用, 有助于HCV的免疫逃避。因此, 深入研究SR-B I在HCV入侵细胞过程中的作用机制, 有望发现在HCV感染的初始环节能够高效地阻断HCV入侵细胞的靶分子, 从而预防和治疗HCV的感染。本文就SR-B I的生物学特性、SR-B I与HCV的相互作用对病毒入侵细胞的影响及机制等方面的最新进展作一综述。

[关键词] 丙型肝炎病毒; B族I型清道夫受体; 高变区1; 入侵

[中图分类号] R 373.21 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)04-0425-04

Role of scavenger receptor class B type I in cell entry of hepatitis C virus

XU Qing-qiang, QI Zhong-tian*

Department of Microbiology, College of Basic Medical Sciences, Shanghai Key Laboratory of Medical Biodefense, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Hepatitis C virus (HCV) cell entry is a multistep process mediated by various receptors. Among these receptors, the scavenger receptor class B type I (SR-B I) is the one considered to be the first to interact with HCV. SR-B I can bind to HCV envelope glycoprotein E2, in which the hypervariable region 1 (HVR1) segment locating at the N-terminus of E2 protein plays a critical role. The interaction of SR-B I with HCV can not only mediate HCV cell entry, but also attenuate neutralization activity of antibodies against E2 protein, contributing to the HCV immune evasion. Therefore, studying the mechanism of HCV/SR-B I interaction during cell entry can help to identify important targets in the initial step of viral infection, contributing to prevention and treatment of HCV infection. This paper reviews the current knowledge on the biological characteristics of SR-B I and mechanisms of HCV cell entry mediated by virus/SR-B I interaction.

[Key words] hepatitis C virus; scavenger receptor class B type I; hypervariable region 1; entry

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(4): 425-428]

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)为单正链RNA病毒, 属于黄病毒科、丙型肝炎病毒属。HCV感染是导致全球范围内慢性肝炎、肝硬化以及肝细胞癌的重要原因。据统计, 全世界约有1.8亿人感染HCV^[1], 然而目前尚无针对HCV的有效疫苗, 主要的治疗手段仍然是聚乙二醇干扰素- α 联合利巴韦林^[2]。HCV基因组含有约9 600个碱基, 编码一条约3 010个氨基酸的多蛋白前体。该多蛋白被宿主和病毒的蛋白酶酶切加工为至少10种成熟蛋白, 包括结构蛋白core、E1、E2以及7种非结构蛋白^[3]。

HCV包膜蛋白由E1和E2组成, 两者均为高度糖基化的I型膜蛋白, 通过非共价作用形成异二聚体, 存在于病毒颗粒表面。感染者血浆中的HCV呈现出不同的浮力密度, 低密度颗粒是与脂蛋白结合的HCV。与HCV结合的脂蛋白可影响HCV的细胞入侵以及抗体对HCV的中和^[4]。包膜蛋白E1、E2与宿主细胞膜上特定的受体和宿主因子相互作用引发病毒侵入。目前鉴定出HCV侵入所必须依赖的受体分子有4种, 即: 人CD81^[5]、B族I型清道夫受体(SR-B I)^[6]、紧密连接蛋白claudin-1(CLDN1)^[7]和occludin

[收稿日期] 2011-10-24 **[接受日期]** 2012-03-02

[基金项目] 国家传染病重大科技专项课题(2012ZX10002-003, 2012ZX10004801-002-005), 上海市重点学科建设项目(B901), 军队科技重大专项课题(AWS11C001)。Supported by Special Project of National Science and Technology for Key Major Infectious Diseases (2012ZX10002-003, 2012ZX10004801-002-005), Shanghai Leading Academic Discipline Project (B901) and Military Science and Technology Project (AWS11C001).

[作者简介] 徐庆强, 硕士生。E-mail: qingqiangxu@yahoo.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81870988, E-mail: qizt@smmu.edu.cn

(OCLN)^[8]。此外,肝素、低密度脂蛋白受体(LDLR)、L-SIGN、DC-SIGN等能吸附HCV,有助于募集HCV至肝细胞膜表面,从而促进病毒感染^[9]。HCV首先与4种受体中的SR-B I结合,然后才能与CD81相结合而形成复合物,并移位于细胞紧密连接处与CLDN1和OCLN相互作用,进而病毒与受体形成的复合物通过网格蛋白(clathrin)介导的胞吞作用内化形成内吞小体(endosome),内吞小体内的低pH引发HCV包膜与内体膜的融合,从而使得HCV衣壳释放,进入胞浆,开始新的复制周期^[10]。SR-B I是最早与HCV作用的受体,虽然目前对SR-B I在HCV入侵细胞过程中的作用还不完全清楚,但最近的研究表明该受体可能通过多种途径介导和影响HCV的细胞入侵,本文就此方面的最新进展作一综述。

1 SR-B I的生物学特性

SR-B I是于1993年由Calvo等首次鉴定出的一种跨膜糖蛋白,与CD36、LIMP II以及SR-B II共同属于B类清道夫受体家族。SR-B I由509个氨基酸组成,包含有1个大胞外环、2个跨膜区和2个胞浆区。胞外环两侧通过跨膜区与相对较短的N端和C端胞浆区相连接从而锚定在细胞膜上,形似马蹄状。胞外区含有多个N-糖基化位点和间隔的半胱氨酸,可被高度糖基化和软脂酰化。SR-B I主要分布于胞膜富含胆固醇和鞘脂的穴样凹陷区域,即脂筏中^[11]。

SR-B I在肝脏及类固醇生成组织中高表达,主要参与脂质的代谢^[11],并且SR-B I能够以高亲和力与高密度脂蛋白(HDL)结合,在胆固醇代谢中起关键作用^[12]。SR-B I还可与低密度脂蛋白(LDL)、极低密度脂蛋白(VLDL)、乙酰化的LDL(AcLDL)以及氧化的LDL(OxLDL)等多种脂蛋白结合,从而介导这些脂蛋白中的脂质转移。因而,SR-B I在胆固醇的多种代谢过程中发挥重要作用,如清除外周末酯化的胆固醇,影响类固醇的生成、胆汁的合成和分泌^[13]。

在肝细胞,SR-B I介导从HDL选择性摄取胆固醇酯。首先,SR-B I与HDL高亲和力结合,随后,受体介导脂蛋白的脂质转运到细胞膜。转运之后脂质排空的脂蛋白颗粒从细胞内释放,重新回到胞外,而胆固醇酯随后被胆固醇酯水解酶水解为游离的胆固醇。SR-B I介导的脂质转运最终导致靶细胞膜中的胆固醇含量增加,并能够激活不同的信号转导通路^[14]。

2 SR-B I在HCV入侵过程中的作用

目前,研究HCV入侵的主要模型有可溶性HCV包膜蛋白E2(sE2)^[6]、HCV假病毒颗粒(HCV pseudotype particles, HCVpp)^[15]和细胞培养来源的HCV(cell culture-derived HCV, HCVcc)^[16]。HCVpp是一种重组病毒,表面为功能性HCV包膜蛋白,内部为含报告基因的反转录病毒或慢病毒的核衣壳;HCVcc是将克隆自1例爆发性丙型肝炎患者的JFH-1株基因组或该株来源的重组基因组转染人肝癌细胞

系Huh7或其衍生的细胞系而产生的能够完成完整的感染周期的HCV。

SR-B I被认为是介导E2蛋白和肝细胞结合的一种受体。体外实验证实SR-B I能够与sE2结合,而且SR-B I与sE2的结合具有选择性和种属特异性,与SR-B I高度相关的人清道夫受体CD36不能结合sE2,小鼠SR-B I也不能与sE2结合^[17]。在人肝癌Huh7细胞中,用小干扰RNA抑制内源性SR-B I的表达或用SR-B I抗体处理均能导致HCVpp和HCVcc的感染性显著降低,表明SR-B I在介导HCV入侵过程中发挥着重要作用,HCV对靶细胞的感染高度依赖于SR-B I^[18]。

2.1 SR-B I在介导与HCV结合过程中的作用 SR-B I能够与HCV包膜蛋白直接结合,也可以通过HCV颗粒表面的脂蛋白或载脂蛋白与HCV间接结合^[19]。位于HCV包膜E2蛋白氨基末端,由27个氨基酸组成的高变区1(HVR1)是介导E2蛋白与SR-B I结合的关键功能区。缺失了HVR1的重组E2蛋白不能结合SR-B I,HVR1抗体能阻断E2与SR-B I的结合。缺失了HVR1的HCV在黑猩猩体内的感染性也显著下降,缺失了HVR1的HCVpp和HCVcc在细胞培养中的感染性均明显降低,HVR1抗体也能明显抑制HCVpp或HCVcc的感染性^[20]。这些结果表明HVR1与SR-B I的结合在HCV感染中起重要作用。然而,缺失HVR1的HCV仍具有残余感染性。另外,能彻底阻断E2与SR-B I结合的小分子化合物并不能完全阻断HCV的感染^[21]。这些表明E2与SR-B I的结合并不是SR-B I在HCV入侵细胞中发挥的唯一功能。

SR-B I、CD81、CLDN1和OCLN是HCV侵入宿主细胞所不可或缺的4种受体,但这些受体单独表达时,仅SR-B I能介导HCVcc与靶细胞膜的结合。这提示HCV与SR-B I的结合对于HCV与CD81及其他受体的作用是必需的^[18]。然而,如上所述,SR-B I在HCV侵入过程中的作用部分是独立于介导HCV与细胞的结合的。

2.2 SR-B I在HCV入侵过程中的作用 SR-B I通过C末端与其伴侣分子PDZK1相互作用,从而调节自身在细胞内的运输、组装和膜定位^[22]。在Huh-7或HepG2细胞中下调SR-B I伴侣分子PDZK1的表达能够抑制2~4倍的HCVpp和HCVcc的入侵,表明SR-B I胞内段C末端可通过调节自身的运输和定位来调节HCV的入侵。将SR-B I C末端置换为SR-B II的内吞基序时,SR-B I介导的HDL转运速度提高,然而HCV的入侵却相对减少,表明缺失或置换SR-B I胞内段C末端能够抑制SR-B I介导的HCV入侵作用,但对SR-B I自身的脂质转运功能并没有影响^[17]。以上结果说明,SR-B I并非通过介导内吞作用的决定子来调节HCV的入侵,也即SR-B I并没有利用经典的二元配体-受体的内吞作用,而是与其他入侵受体(CD81、CLDN1和OCLN)共同作用来促进HCV的内吞。

2.3 SR-B I与配体HDL的相互作用对HCV入侵过程的

影响 SR-B I 的配体 HDL 能够增强 HCV 的感染^[23]。这种增强作用并不是通过 HDL 与 HCV 颗粒的直接结合进而导致 HCV-SR-B I 结合增加所引起的,而是通过脂质转运增加了靶细胞膜中胆固醇的含量,改变了胆固醇在膜中的分布,并激活了不同的信号转导通路,从而促进了 HCV 的入侵。首先,基于脂质体的体外融合实验表明,细胞膜中的胆固醇有助于 HCV_{pp} 和 HCV_{cc} 的膜融合,病毒体表面胆固醇的富集也有利于 HCV 包膜蛋白结构以及构象的改变,从而促进了膜融合的过程^[24]。其次,HDL 能够加速病毒颗粒的细胞侵入过程,而且这种作用是间接的,其机制可能为 SR-B I 与 HDL 的相互作用促进了 CD81 分子向病毒结合位点的富集,并通过胆固醇依赖的途径加速了 HCV-CD81 复合物的细胞内吞^[23]。

3 HVR1 与 SR-B I 相互作用对 HCV 中和作用的影响

正如前面所讨论,HVR1 是介导 E2 与 SR-B I 结合的关键肽段,参与了 HCV 的入侵。值得注意的是,尽管 HVR1 氨基酸序列高度变异,但其理化特性和构象保守。不同 HCV 病毒株的 HVR1 序列部分位置的氨基酸残基具有一定的保守性,这些保守性的氨基酸能够维持 HVR1 的构象,从而有助于 HCV 与 SR-B I 的相互作用。

HVR1 与 SR-B I 相互作用能影响交叉中和抗体的中和作用。这类交叉中和抗体是针对 HCV 包膜蛋白中保守抗原表位,中和作用的机制是阻断 HCV 与 CD81 分子的结合。与野生型 HCV 相比,缺失了 HVR1 的病毒颗粒对这类抗体的敏感性显著增强。针对 E2 蛋白中 CD81-E2 相互作用位点的单克隆抗体也能够有效地中和缺失 HVR1 的 HCV_{pp} 和 HCV_{cc}^[25]。而且,当下调 SR-B I 的表达或阻断其脂质转运功能后,能够恢复交叉中和抗体对 HCV_{pp} 和 HCV_{cc} 的中和作用^[20]。这些都表明 HVR1 与 SR-B I 的相互作用减弱了抗体对 HCV 的中和作用。

Dreux 等^[23] 研究发现 HDL 能够抑制中和抗体的作用,而且要在人血清或 HDL 存在时,抗体对 HCV_{pp} 的中和作用才能够减弱,表明只有来源于能够提供脂蛋白成分的细胞系统产生的病毒颗粒,HVR1 才可能引发中和抗体表位的遮蔽。HVR1 可能通过与脂蛋白的相互作用影响 HCV E1E2 的构象来影响表位的遮蔽和 E1E2 对中和抗体的敏感性^[26]。Scarselli 等^[6] 发现缺失 HVR1 后 sE2 与 CD81 的结合能力增强,HVR1 下游区域发生变异后的 HCV 颗粒对 SR-B I 的依赖性减弱,更容易被来源于慢性感染者血清中的多抗或针对 E2 蛋白中与 CD81 相结合位点的单抗所中和。这些结果表明,HVR1 可能影响 HCV 包膜蛋白的构象,或通过空间作用隐蔽了 HCV 包膜蛋白中的 CD81 结合位点。由于 HCV_{cc} 不能直接和 CD81 分子结合,因此有可能 HCV 与宿主细胞上的 SR-B I 等作用以后,引发 HCV 包膜蛋白的构象发生变化,从而暴露或形成 CD81 的结合位点,使得病毒进一步与

CD81 发生作用^[27]。这种现象与人类免疫缺陷病毒 HIV-1 的入侵过程类似,HIV-1 包膜蛋白先与受体 CD4 分子作用后,引发 gp120 构象上发生改变,从而使其能够与共受体 CXCR4 或 CCR5 相结合^[28]。

4 结 语

SR-B I 在 HCV 的感染过程中发挥着重要的作用,尤其是在入侵细胞的初始环节^[6]。HCV 与 SR-B I 的结合不仅有利于 HCV 与靶细胞的黏附,并且通过 HDL 促进 HCV 入侵,还能降低抗体对 HCV 的中和作用。病毒与宿主细胞的结合与入侵是病毒与宿主细胞间的最初相互作用,也是适应性免疫反应的重要靶点。因此,更深入地研究 SR-B I 与 HCV 包膜蛋白的相互作用,有助于进一步阐明 HCV 侵入宿主细胞的分子机制,为寻找新的药物治疗靶点以及抗 HCV 疫苗研发提供理论依据。

5 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Shepard C W, Finelli L, Alter M J. Global epidemiology of hepatitis C virus infection[J]. *Lancet Infect Dis*, 2005, 5: 558-567.
- [2] Feld J J, Hoofnagle J H. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C[J]. *Nature*, 2005, 436: 967-972.
- [3] Penin F, Dubuisson J, Rey F A, Moradpour D, Pawlotsky J M. Structural biology of hepatitis C virus[J]. *Hepatology*, 2004, 39: 5-19.
- [4] Nielsen S U, Bassendine M F, Burt A D, Martin C, Pumeechochai W, Toms G L. Association between hepatitis C virus and very-low-density lipoprotein (VLDL)/LDL analyzed in iodixanol density gradients[J]. *J Virol*, 2006, 80: 2418-2428.
- [5] Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, et al. Binding of hepatitis C virus to CD81[J]. *Science*, 1998, 282: 938-941.
- [6] Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, Roccasecca R M, Acali S, Filocamo G, et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus[J]. *EMBO J*, 2002, 21: 5017-5025.
- [7] Evans M J, von Hahn T, Tschernie D M, Syder A J, Panis M, Wölk B, et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry[J]. *Nature*, 2007, 446: 801-805.
- [8] Ploss A, Evans M J, Gaysinskaya V A, Panis M, You H, de Jong Y P, et al. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells[J]. *Nature*, 2009, 457: 882-886.
- [9] Burlone M E, Budkowska A. Hepatitis C virus cell entry: role of lipoproteins and cellular receptors[J]. *J Gen Virol*, 2009, 90(Pt

- 5);1055-1070.
- [10] Blanchard E, Belouard S, Goueslain L, Wakita T, Dubuisson J, Wychowski C, et al. Hepatitis C virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis[J]. *J Virol*, 2006, 80:6964-6972.
- [11] Rigotti A, Miettinen H E, Krieger M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-B I in the lipid metabolism of endocrine and other tissues[J]. *Endocr Rev*, 2003, 24:357-387.
- [12] Krieger M. Scavenger receptor class B type I is a multiligand HDL receptor that influences diverse physiologic systems[J]. *J Clin Invest*, 2001, 108:793-797.
- [13] Van Eck M, Hoekstra M, Out R, Bos I S, Kruijt J K, Hildebrand R B, et al. Scavenger receptor B I facilitates the metabolism of VLDL lipoproteins *in vivo* [J]. *J Lipid Res*, 2008, 49:136-146.
- [14] Hoekstra M, Ye D, Hildebrand R B, Zhao Y, Lammers B, Stitzinger M, et al. Scavenger receptor class B type I-mediated uptake of serum cholesterol is essential for optimal adrenal glucocorticoid production[J]. *J Lipid Res*, 2009, 50:1039-1046.
- [15] Hsu M, Zhang J, Flint M, Logvinoff C, Cheng-Mayer C, Rice C M, et al. Hepatitis C virus glycoproteins mediate pH-dependent cell entry of pseudotyped retroviral particles[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100:7271-7276.
- [16] Wakita T, Pietschmann T, Kato T, Date T, Miyamoto M, Zhao Z, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome[J]. *Nat Med*, 2005, 11:791-796.
- [17] Dreux M, Dao Thi V L, Fresquet J, Guérin M, Julia Z, Verney G, et al. Receptor complementation and mutagenesis reveal SR-B I as an essential HCV entry factor and functionally imply its intra- and extra-cellular domains [J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5: e1000310.
- [18] Catanese M T, Ansuini H, Graziani R, Huby T, Moreau M, Ball J K, et al. Role of scavenger receptor class B type I in hepatitis C virus entry; kinetics and molecular determinants[J]. *J Virol*, 2010, 84:34-43.
- [19] Thuahnai S T, Lund-Katz S, Anantharamaiah G M, Williams D L, Phillips M C. A quantitative analysis of apolipoprotein binding to SR-B I: multiple binding sites for lipid-free and lipid-associated apolipoproteins[J]. *J Lipid Res*, 2003, 44:1132-1142.
- [20] Prentoe J, Jensen T B, Meuleman P, Serre S B, Scheel T K, Leroux-Roels G, et al. Hypervariable region 1 differentially impacts viability of hepatitis C virus strains of genotypes 1 to 6 and impairs virus neutralization[J]. *J Virol*, 2011, 85:2224-2234.
- [21] Syder A J, Lee H, Zeisel M B, Grove J, Soulier E, Macdonald J, et al. Small molecule scavenger receptor B I antagonists are potent HCV entry inhibitors[J]. *J Hepatol*, 2011, 54:48-55.
- [22] Ikemoto M, Arai H, Feng D, Tanaka K, Aoki J, Dohmae N, et al. Identification of a PDZ-domain-containing protein that interacts with the scavenger receptor class B type I [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:6538-6543.
- [23] Dreux M, Pietschmann T, Granier C, Voisset C, Ricard-Blum S, Mangeot P E, et al. High density lipoprotein inhibits hepatitis C virus-neutralizing antibodies by stimulating cell entry via activation of the scavenger receptor B I [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281:18285-18295.
- [24] Haid S, Pietschmann T, Pêcheur E I. Low pH-dependent hepatitis C virus membrane fusion depends on E2 integrity, target lipid composition, and density of virus particles[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284:17657-17667.
- [25] Kapadia S B, Barth H, Baumert T, McKeating J A, Chisari F V. Initiation of hepatitis C virus infection is dependent on cholesterol and cooperativity between CD81 and scavenger receptor B type I [J]. *J Virol*, 2007, 81:374-383.
- [26] Bankwitz D, Steinmann E, Bitzegeio J, Ciesek S, Friesland M, Herrmann E, et al. Hepatitis C virus hypervariable region 1 modulates receptor interactions, conceals the CD81 binding site, and protects conserved neutralizing epitopes[J]. *J Virol*, 2010, 84:5751-5763.
- [27] Dhillon S, Witteveldt J, Gatherer D, Owsianka A M, Zeisel M B, Zahid M N, et al. Mutations within a conserved region of the hepatitis C virus E2 glycoprotein that influence virus-receptor interactions and sensitivity to neutralizing antibodies[J]. *J Virol*, 2010, 84:5494-5507.
- [28] Wyatt R, Sodroski J. The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens[J]. *Science*, 1998, 280:1884-1888.

[本文编辑] 商素芳, 邓晓群