

人类冠状病毒调节宿主抗病毒天然免疫分子机制*

孙莉 刘殿波 杨宇东 邢雅玲 陈晓娟 陈忠斌**

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要 SARS 冠状病毒和正在全球流行的猪源 H1N1 型流感病毒等人类新发呼吸道病毒对人类生命健康构成严重威胁. 人类重要呼吸道病毒与宿主抗病毒天然免疫的关系是近年来研究热点. SARS 冠状病毒等很多 RNA 病毒能够编码某种蛋白质, 抑制干扰素表达以及干扰素介导的抗病毒信号通路. 人类冠状病毒木瓜样蛋白酶(papain-like protease, PLP)利用其自身去泛素化酶(DUB)活性, 使干扰素表达通路中重要调节蛋白发生去泛素化, 从而抑制干扰素信号传导. 同时, PLP 蛋白酶通过阻碍干扰素表达信号通路中最新发现的重要调节蛋白 ERIS (也称 MITA/STING)二聚化, 使其失活并丧失激活干扰素通路的功能, 这些发现对于阐明人类重要呼吸道病毒对宿主细胞抗病毒天然免疫反应的调节作用及其机制具有重要意义, 为人类新发病毒致病机理、免疫防治以及抗病毒药物研究提供新的思路.

关键词 冠状病毒, 木瓜样蛋白酶, 干扰素, MITA/ERIS, 抗病毒天然免疫反应

学科分类号 Q5

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00462

病毒是一种严格的细胞寄生物, 依赖于宿主细胞进行自身复制和传播. 人类病毒因其数量众多、种类多样、进化迅速, 病毒与宿主共进化过程中形成了精巧的机制对宿主抗病毒天然免疫反应进行调节. 尽管人类在与病毒的斗争中已经取得重大的进步, 最近几年新发和再发的人类重要病毒, 如全球流行的人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)、埃博拉(Ebola)病毒以及引起呼吸道感染的 SARS 冠状病毒和正在全球肆虐的猪源 H1N1 型 A 型流感病毒(influenza A virus)仍然威胁着人类健康.

人类重要呼吸道病毒与宿主抗病毒天然免疫的关系是近年来的研究热点. 一旦病毒感染机体, 宿主会立即启动天然免疫反应, 使得临近细胞都处于抗病毒状态. 但是, 病毒也会编码一些特定蛋白质, 甚至可以利用宿主的蛋白质完成自身生命周期的循环, 并逐步形成一套能够逃逸或阻碍宿主免疫反应的机制. 最新研究显示, 人呼吸道合胞病毒(RSV)编码的 NS2 蛋白能够与 RIG- I N 端 1~229 位氨基酸相互作用, 阻止 RIG- I 与 MAVS 的结合, 从而抑制干扰素信号通路^[1]. A 型流感病毒编码的 NS1 蛋白通过与 TRIM25 相互作用, 阻止 RIG- I 的泛素化, 从而抑制 RIG- I 介导的信号转

导^[2]. 我们课题组最新研究发现(待发表), 人类冠状病毒 NL63 PLP 蛋白酶通过阻碍干扰素表达信号通路中最新发现的重要调节蛋白 ERIS (也称 MITA/STING)二聚化, 使其失活并丧失激活干扰素通路的功能, 阐明 NL63 PLP 蛋白酶对宿主细胞抗病毒天然免疫反应的调节作用及其机制, 为人类新发病毒致病机理、免疫防治以及抗病毒药物研究提供新的思路.

1 抗病毒天然免疫反应通路及转录因子激活

天然免疫反应(innate immune response)是宿主在长期进化过程中形成的抵抗病毒入侵的重要防御机制之一. 病毒感染细胞后, 细胞中的模式识别受体(PRR)(如存在细胞质中的 RIG- I 和位于内体膜上的 TLR3/7/9 等)通过识别入侵病毒的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP),

* 国家自然科学基金(30870536, 30972761, 30671843), 北京市自然科学基金(7092075)和国家高技术研究发展计划(863)(2006AA02Z412)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 010-66930297, E-mail: chenzhongbin@yahoo.com

收稿日期: 2009-09-27, 接受日期: 2009-11-16

经接头蛋白(MAVS 和 TRIF/MyD88 等)介导, 激活下游的激酶复合体 (IKK β -IKK α -IKK γ 和 TBK1/IKK ϵ), 通过不同机制激活转录因子 NF- κ B 和 IRF3/7, 引起 I 型干扰素等抗病毒细胞因子表达. IFN 进一步激活 IFN 信号通路, 产生上百个 IFN 刺激基因(ISG)表达, 并由 ISG 引发抗病毒效应.

病毒核酸(DNA/RNA)是一种重要的病原相关分子模式 (PAMP), 一旦入侵宿主体内, 其核酸就会结合并活化宿主体内的模式识别受体(PRR). 模式识别受体分为三类: 一类是 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR), 由 TLR3、TLR7、TLR8、TLR9 等构成, 主要表达于某些细胞的质膜或内体膜中; 第二类是维甲酸诱导基因 I 样受体(RIG- I -like receptor, RLR), 包括维甲酸诱导基因 I (RIG- I)、黑素瘤分化相关基因 5(MDA5, 也称 IFIH1)和 LGP2, 这些受体普遍在细胞质中表达, 识别细胞质中的病毒 RNA^[3]; 第三类是核酸寡聚结构域样受体 (nucleotide-oligomerization domain(NOD)-like receptor, NLR). 近年来, 关于病毒是如何激活 PRR, 诱导干扰素表达以及病毒逃逸宿主免疫反应机制等方面报道较多. 现在明确的是, 病毒感染机体后会引发一系列复杂的细胞内事件, 影响着信号通路的主要元件. 例如病毒激活 PRR 后, 一方面引起宿主本身的抗病毒免疫反应, 另一方面可能是病毒制造的假象, 操纵信号通路为自身的复制和增殖所用. 正因为病毒和宿主抗病毒天然免疫反应相互作用, 使得不同病毒可能通过相同的 PRR 达到不同的效果, 这也为病毒相关疾病的治疗带来难题.

RIG- I 和 MDA5 是包括半胱天冬氨酸酶募集结构域(caspase recruitment domain, CARD)的病毒 RNA 识别器, 而干扰素 β 启动子刺激因子 -1 (interferon-beta promoter stimulator-1, IPS-1, 也称 MAVS/VISA/Cardif)能够传递 RIG- I 和 MDA5 下游信号^[4]. 最新研究显示, TM 结构域具有帮助 IPS-1 自联和转导信号的功能, RIG- I 和 MDA5 通过同型 CARD 区与 IPS-1 相互作用, 稳定并积累活化的 IPS-1 CARD 二聚体, 这种活化的 IPS-1 二聚体直接与下游效应因子 3 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 3, TRAF3)作用, 通过活化其 E3 酶活性激活 TBK1 介导的 IRF3/7 通路^[5]. 当然, IPS-1 TM 结构域对于 NF- κ B 的活化也是不可或缺的.

NF- κ B、IRF3 是抗病毒天然免疫通路中的两

种重要转录因子. NF- κ B 的活化通过两种途径. 一种是经典途径, 主要由 TLR 受体识别刺激信号(如白介素 -1(IL-1)、肿瘤坏死因子(TNF)等)激活 I κ B 激酶(I κ B kinase, IKK)复合体, 被激活的 IKK 复合体磷酸化 NF- κ B 抑制蛋白(NF- κ B inhibitory proteins, I κ B), 磷酸化的 I κ B 又被 K48 连接的多聚泛素链修饰并引导至蛋白酶体进行降解, 使得 NF- κ B 获得自由转入核内. 另一种是非经典途径, 主要是 NF- κ B 的前体蛋白 P100 和 P105 通过磷酸化及水解最终形成具有活性的 NF- κ B. 最近研究表明, 泛素化在 P100 的加工过程中发挥重要作用^[6]. IRF3 活化需要 IKK 家族的两种激酶——TANK 结合激酶 1(TANK binding kinase 1, TBK1)和 I κ B 激酶复合物 ϵ (I κ B kinase ϵ , IKK ϵ)的磷酸化作用, 然后二聚化并转入核内^[3]. 活化后的核 IRF3 及 NF- κ B 转录因子会增强 I 型干扰素的表达. 过表达的 I 型干扰素被干扰素识别受体结合, 激活 JAK-STAT 通路, 上调 IFN 所调控基因(如 ISG15)的表达, 引起天然免疫反应.

2 人类冠状病毒对宿主抗病毒天然免疫调节作用

冠状病毒是引起人类呼吸道感染的一类重要病原. 目前发现的人类冠状病毒已多达 5 种. 继 2003 年出现的 SARS 冠状病毒后又出现了两种人类新发冠状病毒 NL63 和 HKU1. NL63 冠状病毒是 2004 年由荷兰学者 Van der Hoek 等^[7]首先报道的一种单股正链 RNA 病毒. NL63 冠状病毒呈世界(包括中国)性分布, 流行病学检测发现, NL63 冠状病毒在儿童和成人(特别是儿童)呼吸道感染中的阳性检测率高, 已成为人类呼吸道感染的主要新发病原之一.

宿主为限制病毒在体内增殖, 通常启动一种潜在、多样化的抗病毒反应^[8]. 病毒会编码某种多功能蛋白阻止或抵御宿主抗病毒反应, 例如加速病毒复制, 减少宿主抗病毒反应的敏感性. 以动物冠状病毒 MHV-A59 为对象研究发现^[9], 冠状病毒能够引起宿主低水平 I 型干扰素的产生, 原因在于 MHV-A59 非结构蛋白 nsp3 的木瓜样蛋白酶(PLP)催化域之一(PLP2)能够结合 IRF3 分子, 去除 IRF3 的泛素化, 阻止其核转入, 从而抑制宿主抗病毒天然免疫反应. 我们的研究^[10]证实, SARS-CoV 的 PLpro 蛋白酶是一种 IFN 拮抗剂, 通过与 IRF3 相互作用, 阻止 IRF3 的磷酸化、二聚化及核转入,

抑制 IFN 产生, 但是对于 NF- κ B 激活的 IFN 表达通路则没有抑制作用, 而且 PLpro 的催化活性对于其拮抗 IFN 来说不是必需的. Frieman 等^[11]利用一种新的 IFN 拮抗筛选技术(VRP 分析)发现, SARS 除核衣壳蛋白(N)、ORF3b、ORF6、NSP1、NSP3 外, NSP7 和 NSP15 也是一种强烈的 IFN 拮抗剂. 与上述结果不同, Frieman 等^[11]检测到 SARS 编码的 PLpro 不仅封闭 IRF3 的磷酸化, 也封闭 NF- κ B 信号通路, 但是并没有检测到 PLpro 与 IRF3 直接相互作用. 此外, SARS PLpro 的泛素样结构域(UBL)对于抑制通路来说是必需的, 但是其自身不足以封闭信号通路. 这些研究结果更加证明了冠状病毒调控天然免疫反应的多样性和复杂性, 这也许是人类冠状病毒致病性和免疫性差异的一种机制.

3 人类新发冠状病毒 NL63 PLP 蛋白酶调节宿主抗病毒天然免疫反应

人类冠状病毒种类多样, 感染与免疫各具特性且致病性不同. 从系统发育上来说, 人类新发冠状病毒 NL63 和冠状病毒 229E 最为接近, 但仅有 65% 的序列同源性^[12]. 大部分病毒利用不同受体进入靶细胞, 例如, NL63 冠状病毒利用血管紧张素转换酶 2(ACE2)感染靶细胞, 而 229E 则将 CD13 作为受体^[13]. 有趣的是, NL63 与 SARS 享有同样的受体, 但是其致病性完全不同于 SARS^[14], 也许是 NL63 缺乏 SARS 中的一个致病因子. 因此, 冠状病毒 NL63 已成为研究 SARS 冠状病毒的最理想模型. 我们课题组以冠状病毒 NL63 木瓜样蛋白酶(PLP)为研究对象, 探索 PLP 蛋白酶调控宿主抗病毒天然免疫反应分子机制(待发表).

NL63 冠状病毒包含 27 553 个核苷酸, 基因组 5'端 2/3 处有两个开放阅读框(ORF1a、ORF1b), 通过核糖体移码序列参与编码多聚蛋白 pp1a 和 pp1ab, 基因组 3'端 1/3 区编码 4 种结构蛋白(S、E、M、N)^[15]. 1a 蛋白上的非结构蛋白 nsp3 中存在两个木瓜样蛋白酶(PLP)结构域 PLP1 和 PLP2, 负责多聚蛋白 pp1a 和 pp1ab N 端部分的切割加工, 例如 PLP1 作用于切割位点(CS) 1(nsp1 和 nsp2 之间)而 PLP2 作用于 CS2 (nsp2 和 nsp3 间)和 CS3 (nsp3 和 nsp4 间)^[15]. 意外的是, 我们研究发现, PLP 蛋白是冠状病毒编码的一种病毒来源的去泛素化酶(deubiquitinase, DUB)^[15], 与 SARS 冠状病毒 PLpro 具有同样的活性^[16].

蛋白酶是所有冠状病毒复制周期中的重要蛋

白, 有利于复制蛋白酶体的正确定位、功能发挥、病毒 RNA 合成和病毒复制. 我们课题组研究发现, 冠状病毒 NL63 PLP2 蛋白酶除具有经典蛋白酶水解活性外, 还具有 DUB 活性^[15]. 由于编码 PLP2 的 nsp3 蛋白定位于膜上, 我们小组构建 PLP1-TM、PLP2-TM 以及 PLP2-TM 突变体 C1678A、H1836A、D1849A 等表达载体. 生物学功能研究发现, PLP1-TM 和 PLP2-TM 均具有很强的 DUB 活性, 与 PLP2 突变体不同, PLP2-TM 突变体也有少量的 DUB 活性, 又 PLP1 仅有微弱 DUB 活性, 说明 PLP 蛋白酶的 DUB 活性具有 TM 依赖性, 且膜定位对于 PLP 蛋白酶功能的发挥有着至关重要的作用. 此外, PLP2-TM 对其他泛素样分子(ISG15、SUMO)也具有明显作用, 而 PLP1-TM 仅具有去 SUMO 活性.

冠状病毒 NL63 PLP 蛋白酶调控宿主抗病毒天然免疫反应的机制是什么? 针对这一科学问题, 我们将 IFN/NF- κ B/PRD(III-I)₄ 荧光素酶报告基因分别与 PLP2-TM 及其突变体共同转染 293T 细胞(PRL Renilla 荧光素酶报告基因做内参), 24 h 后用仙台病毒感染细胞, 作用 18 h 后收集细胞裂解液, 通过测定报告基因的荧光素酶活性, 检测 PLP2-TM 对信号通路的作用. 数据显示, PLP2-TM 通过抑制 NF- κ B 和 IRF3 两条支路负调节干扰素表达通路. 与 PLP2 不同, PLP2-TM 的突变体对这三种通路也有少量的抑制作用, 再次验证了 TM 的重要性. 为了探索 PLP2-TM 的作用位点, 我们利用信号通路中的关键蛋白分别激活通路, 再将 PLP2-TM 与其共同转染细胞. 实验结果表明, PLP2-TM 明显抑制通路中信号蛋白维甲酸诱导基因 I (RIG-I)、TANK 结合激酶 1(TBK1)及干扰素调节因子 3(IRF3)等激活的干扰素通路. 关于 PLP2-TM 抑制信号蛋白激活干扰素通路的分子机制, 我们研究小组利用免疫共沉淀技术证实, PLP2-TM 与 RIG-I、TBK1、IRF3 相互作用, 且 PLP2-TM 通过抑制 RIG-I、TBK1、IRF3 的泛素化负调节干扰素表达. 这与以前的报道类似, 如 MHV-A59 的 PLP2 抑制 IRF3 的泛素化, CYLD 封闭 RIG-I、TBK1、IKK ϵ 的泛素化, DUBA 去除 TRAF3 的泛素化修饰, 最终抑制抗病毒天然免疫反应^[9, 17-18]. 由此可见, 不同物种可以通过不同或相同的方式调控天然免疫反应.

最新发现的干扰素刺激因子 ERIS(endoplasmic reticulum (ER) IFN stimulator, 也称 STING/MITA)

定位于内质网膜或线粒体膜、具有 N 端信号肽及 4 或 5 个跨膜域^[19-21]。在外界刺激或 TBK1/IKK ϵ 过表达后, ERIS 会发生一系列翻译后修饰, 例如二聚化、泛素化及磷酸化; ERIS 通过 TM 结构域、二聚化促进 I 型干扰素的表达^[19]。同样定位于膜上, PLP2-TM 是否会通过与 ERIS 相互作用负反馈干扰素表达通路? 我们研究发现, PLP2-TM 与 ERIS 相互作用, 而且阻止 ERIS 的泛素化及 ISG 化修饰, 这与 PLP2-TM 的生物学特性(DUB)恰好相符。有趣的是, PLP2-TM 阻止 ERIS 的二聚化, 二聚化是 ERIS 激活干扰素通路的前提^[19], 这可能

是 PLP2-TM 抑制 ERIS 激活干扰素通路的一种方式。以上研究表明 NL63 PLP 蛋白酶是一种多功能蛋白酶。一方面, 利用自身 DUB 活性, 阻碍通路中重要蛋白质的泛素化, 从而抑制信号的传导; 另一方面, 通过阻碍 ERIS 二聚化使其失活, 丧失激活干扰素通路的功能。此外, PLP 功能发挥与蛋白质的膜定位有着密不可分的关系, PLP 的膜定位不仅有利于模拟病毒蛋白的真实情况, 同时利于 PLP 与信号通路中膜相关分子发生反应, 调控宿主抗病毒天然免疫反应。

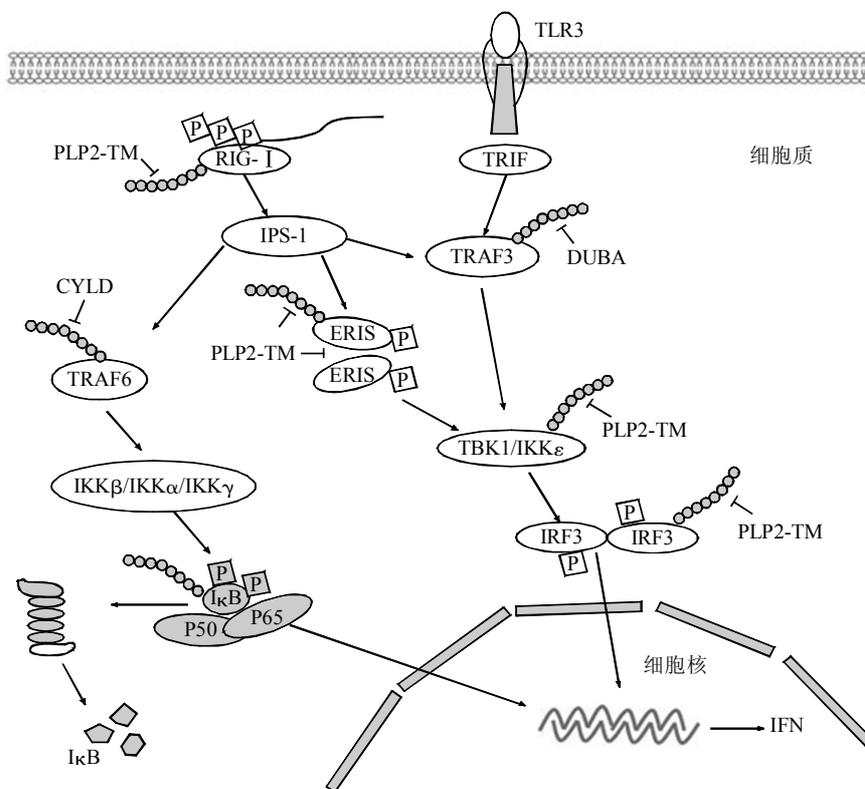


Fig. 1 HCoV-NL63 PLP2-TM blocks host antiviral innate immune responses

图 1 HCoV-NL63 PLP2-TM 负调控宿主抗病毒天然免疫反应

人类冠状病毒 NL63 PLP2-TM 一方面通过其去泛素化酶活性抑制 RIG-I、TBK1、IRF3 等蛋白的调节功能, 另一方面通过抑制 ERIS 的二聚化, 负调控宿主抗病毒天然免疫反应。

4 总结与展望

冠状病毒属于 RNA 病毒, 具有高变异性。由于 SARS 的出现, 颠覆了人类冠状病毒仅仅是引起普通感冒呼吸道病原(如 HCoV-229E)的观点。尽管现在 SARS 病原已经被扑灭, 却警示我们冠状病毒

具有重要的公共卫生学意义。病毒感染会引起宿主的免疫活化。天然免疫反应是一种有效的抗病毒机制, 为机体免疫反应第一道防线。病毒感染后宿主能够立即启动抗病毒天然免疫反应, 虽然不能完全清除病毒, 却能抑制病毒的复制和播散。I 型干扰素(干扰素 α 、 β)是在各种外界刺激(如病毒, 肿瘤

坏死因子, 白介素等)作用下引发细胞内合成或分泌的可溶性细胞因子, 引起细胞产生系列级联反应. 宿主在免疫活化的同时总会通过细胞凋亡减少病毒载量. 例如, IPS-1 除了参与抗病毒 I 型干扰素反应外, 在启动病毒诱导凋亡中也发挥重要作用, IPS-1 诱导凋亡依赖于半胱天冬酶而不依赖于其诱导 I 型干扰素的功能^[22]. 由于 IPS-1 的双重功能, 使得其成为病毒逃避宿主天然免疫反应的靶点. 因此凋亡已经成为宿主在机体水平阻止病毒复制和传染性病原产生的一种保护方式. 基于宿主的两种保护途径, 病毒往往编码特定蛋白抵抗宿主的免疫反应及凋亡反应. 但是对于冠状病毒编码蛋白如何调控宿主抗病毒天然免疫反应分子机制的研究有待深入.

本课题组以冠状病毒 NL63 PLP 蛋白酶为研究对象, 发现 PLP 的 DUB 活性在抗病毒天然免疫中发挥了重要作用, PLP 通过封闭通路中重要蛋白质的泛素化修饰, 负调节天然免疫反应. 而且, 对于定位于膜上的 PLP, 能够与膜相关信号蛋白(如 ERIS)发生作用, 通过破坏其二聚化, 阻断信号的传导. 虽然 Frieman 等^[11]认为 DUB 功能很可能存在非特异性, 但是不能排除 PLP 利用其 DUB 活性作用于多个位点, 达到封闭通路的目的. 对于冠状病毒的 DUB 活性与调控天然免疫反应机制间的关系存在很多争论. 可以肯定的是, 冠状病毒的 DUB 活性在调控抗病毒天然免疫反应方面发挥着重要作用. 除去 DUB 活性外, 病毒很可能会利用各种方式调控免疫反应. 其一, 通过直接与干扰素通路中感受识别器或接桥蛋白相互作用, 阻碍干扰素的表达及下游信号通路活化, 如 NL63 PLP2-TM 与 ERIS 相互作用阻碍其二聚化, 从而抑制其活性. 其二, 病毒编码蛋白通过作用于泛素连接酶(E3)间接抑制天然免疫反应, 如同 A 型流感病毒编码的 NS1 蛋白与 TRIM25 相互作用. 其三, 病毒还可以编码泛素连接酶(E3)改变宿主泛素化及类泛素化机制^[23]. 最后, 病毒还可以通过抑制凋亡保护自身复制和增殖. 例如, Lei 等^[22]发现 SARS 编码的 12 种非结构蛋白中, nsp15 能够完全抑制 IPS-1 介导的细胞凋亡. 总之, 随着抗病毒药物应用的越来越多和人工免疫对病毒形成的生存“压力”, 冠状病毒发生突变和催生新病毒的几率也随之升高. 它们能够编码多功能蛋白, 通过不同机制抵御宿主抗病毒天然免疫反应. 因此, 探索病毒(尤其是冠状病毒)是如何逃逸宿主天然免疫反应的机制, 势

必成为目前和今后一段时期免疫学研究的热点之一, 将为病毒免疫预防和抗病毒药物研制提供新的思路.

参 考 文 献

- [1] Ling Z H, Tran K C, Teng M N. Human respiratory syncytial virus nonstructural protein NS2 antagonizes the activation of beta interferon transcription by interacting with RIG-I. *J Virol*, 2009, **83**(8): 3734-3742
- [2] Gack M U, Albrecht R A, Urano T, *et al.* Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by the host viral RNA sensor RIG-I. *Cell Host & Microbe*, 2009, **5**(5): 439-449
- [3] Bowie A G, Unterholzner L. Viral evasion and subversion of pattern recognition receptor signalling. *Nature*, 2008, **8**(12): 911-922
- [4] Kaiwai T, Takahashi K, Sato S, *et al.* IPS-1, an adaptor triggering RIG-I-and Mda5-mediated type 1 interferon induction. *Nat Immunol*, 2005, **6**(10): 981-988
- [5] Tang E D, Wang C Y. MAVS self-association mediates antiviral innate immune signaling. *J Virol*, 2009, **83**(8): 3420-3428
- [6] Sun S C, Ley S C. New insights into NF- κ B regulation and function. *Trends in Immunology*, 2008, **29**(8): 469-478
- [7] Van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink M F, *et al.* Identification of a new human coronavirus. *Nature Medicine*, 2004, **10**(4): 368-373
- [8] Randall R E, Goodbourn S. Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol*, 2008, **89**(Pt 1): 1-47
- [9] Zheng D H, Chen G, Guo B C, *et al.* PLP2, a potent deubiquitinase from murine hepatitis virus, strongly inhibits cellular type I interferon production. *Cell Research*, 2008, **18**(11): 1105-1113
- [10] Devaraj S G, Wang N, Chen Z B, *et al.* Regulation of IRF3-dependent innate immunity by the papain-like protease domain of the severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Biol Chem*, 2007, **282**(44): 32208-32221
- [11] Frieman M, Ratia K, Johnston R E, *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus papain-like protease ubiquitin like domain and catalytic domain regulate antagonism of IRF3 and NF- κ B signaling. *J Virol*, 2009, **83**(13): 6689-6705
- [12] Dijkman R, Van der Hoek L. Human coronaviruses 229E and NL63: close yet still so far. *J Formos Med Assoc*, 2009, **108**(4): 270-279
- [13] Hofmann H, Pyrc K, Van der Hoek L, *et al.* Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(22): 7988-7993
- [14] Pyrc K, Berkhout B, Van der Hoek L. The novel human coronaviruses NL63 and HKU1. *J Virol*, 2007, **81**(7): 3051-3057
- [15] Chen Z B, Wang Y H, Baker S C, *et al.* Proteolytic processing and deubiquitinating activity of papain-like protease of human coronavirus NL63. *J Virol*, 2007, **81**(11): 6007-6018
- [16] Barretto N, Jukneliene D, Ratia K, *et al.* The papain-like protease of severe acute respiratory syndrome coronavirus has deubiquitinating

- activity. *J Virol*, 2005, **79**(24): 15189–15198
- [17] Friedman C S, O' Donnell M A, Legarda-Addison D, *et al.* The tumour suppressor CYLD is a negative regulator of RIG-I-mediated antiviral response. *EMBO*, 2008, **9**(9): 930–936
- [18] Kayagaki N, Phung Q, Chan S, *et al.* DUBA: a deubiquitinase that regulates type I interferon production. *Science*, 2007, **318** (5856): 1628–1632
- [19] Sun W X, Li Y, Chen L, *et al.* ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(21): 8653–8658
- [20] Zhong B, Yang Y, Li S, *et al.* The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity*, 2008, **29**(4): 538–550
- [21] Ishikawa H, Barber G N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature*, 2008, **455**(7213): 674–678
- [22] Lei Y, Moore C B, Liesman R M, *et al.* MAVS-mediated apoptosis and its inhibition by viral proteins. *PLoS One*, 2009, **4**(5): e5466
- [23] Isaacson M K, Ploegh H L. Ubiquitination, ubiquitin-like modifiers, and deubiquitination in viral infection. *Cell Host & Microb*, 2009, **5**(6): 559–570

Regulation of Antiviral Innate Immune Responses by Human Coronavirus*

SUN Li, LIU Dian-Bo, YANG Yu-Dong, XING Ya-Ling, CHEN Xiao-Juan, CHEN Zhong-Bin**

(Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract Emerging and re-emerging human viral pathogens, such as severe acute respiratory syndrome (SARS), which emerged in 2003, and the recently emerged swine-origin H1N1 influenza virus, which causes global pandemics, have had a worldwide impact and therefore represent a serious threat to human health. Viruses as the obligate parasites strictly depend on host cells for replication and, throughout co-evolution with hosts, viruses have developed strategies to evade and subvert the host antiviral innate immune response. A wide variety of RNA viruses have been reported to encode proteins that inhibit host innate immune responses. Papain-like protease (PLP) of human coronavirus is a novel viral-encoded deubiquitinase and is an IFN antagonist for inhibition of host antiviral innate immune response through disruption of ERIS (also called MITA/STING)-mediated signaling. The novel mechanisms by which human coronavirus inhibits host IFN response and new findings that papain-like protease (PLP) of coronavirus is an IFN antagonist which targets specific components of the IFN induction pathway were introduced.

Key words coronavirus, papain-like protease, interferon, MITA/ERIS, antiviral innate immune response

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00462

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30870536, 30972761, 30671843), The Beijing Municipal Natural Science Foundation (7092075) and Hi-Tech Research and Development Program of China (2006AA02Z412).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-66930297, E-mail: chenzhongbin@yahoo.com

Received: September 27, 2009 Accepted: November 16, 2009