

综述

小RNA病毒与自噬的研究进展

李娟 程安春 汪铭书*

(四川农业大学动物医学院, 预防兽医研究所, 禽病防治研究中心, 动物疫病与人类健康四川省重点实验室,
四川省动物疫病防控国际联合中心, 成都 611130)

摘要 自噬是细胞的一种自我保护机制, 是受损细胞器及大分子物质通过溶酶体降解再利用的过程。近年研究表明, 小RNA病毒通过调控细胞自噬来促进自身复制。该文总结了小RNA病毒诱导细胞自噬的分子机制及病毒复制与自噬之间的关系, 为小RNA病毒与自噬的研究提供参考。

关键词 自噬; 小RNA病毒; 病毒复制

Research Progress of Picornavirus and Autophagy

LI Juan, CHENG Anchun, WANG Mingshu*

(Avian Disease Research Center, College of Veterinary Medicine, Key Laboratory of Animal Diseases and Human Health of Sichuan Province, Institute of Preventive Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, International Joint Center for Animal Disease Prevention and Control in Sichuan Province, Chengdu 611130, China)

Abstract Autophagy is a self-protection mechanism of cells, which is the process of degrading and reusing damaged organelles and macromolecules through lysosomes. Recent studies have shown that picornaviruses promote their own replication by regulating autophagy. This paper summarizes the molecular mechanism of picornavirus inducing autophagy and the relationship between virus replication and autophagy, which provides a reference for the study of picornavirus and autophagy.

Keywords autophagy; picornavirus; virus replication

根据国际病毒分类委员会(ICTV)报告, 小RNA病毒科目前包括63个属, 147个物种[网址: Picornaviridae-Picornaviridae-Positive-sense RNA Viruses-ICTV(ictvonline.org)], 主要包括肠道病毒属、口蹄疫病毒属、心病毒属和肝炎病毒属等, 其中以脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)、肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)、口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease virus, FMDV)、脑心肌炎病毒(encephalomyocardi-

tis virus, EMCV)和甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)为典型代表。小RNA病毒基因组为单股正链RNA(约6.7~10.1 Kb), 由5' UTR、1个开放式阅读框、3' UTR和poly(A)尾构成, 开放式阅读框编码一个多聚蛋白, 裂解为P1、P2和P3区, P1区编码结构蛋白VP0、VP1和VP3; P2区编码非结构蛋白2A、2B和2C; P3区编码非结构蛋白3A、3B、3C和3D^[1]。其中有的蛋白还会继续裂解, 如FMDV和PV的VP0蛋

收稿日期: 2022-01-06 接受日期: 2022-02-28

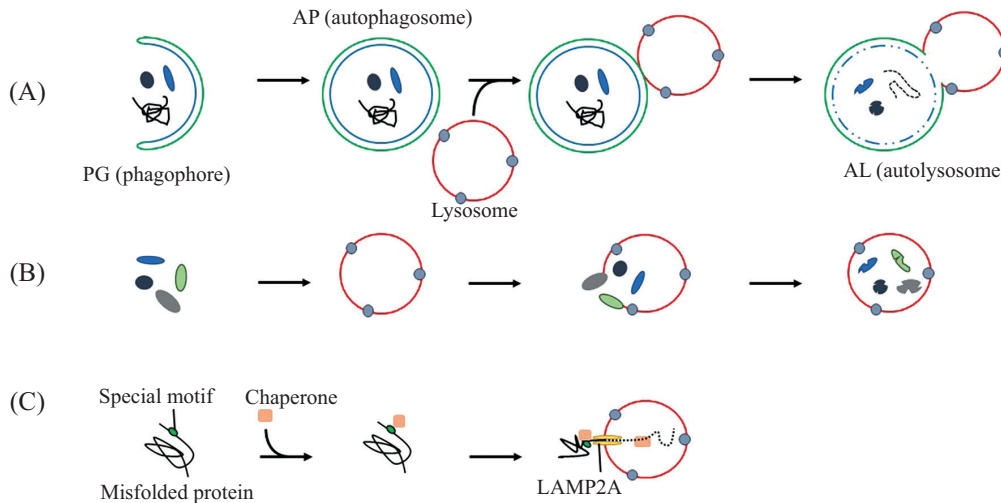
财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(批准号: CARS-42-17)和国家农业产业技术体系四川兽药创新团队专项(批准号: SCCXTD-2020-18)资助的课题

*通讯作者: Tel: 028-86291371, E-mail: mshwang@163.com

Received: January 6, 2022 Accepted: February 28, 2022

This work was supported by China Agriculture Research System of MOF and MARA (Grant No.CARS-42-17) and Program Sichuan Veterinary Medicine and Drug Innovation Group of China Agricultural Research System (Grant No.SCCXTD-2020-18)

*Corresponding author. Tel: +86-28-86291371, E-mail: mshwang@163.com



A: 巨自噬; B: 微自噬; C: 分子伴侣介导的自噬。

A: macroautophagy; B: microautophagy; C: chaperone-mediated autophagy.

图1 自噬的分类(根据参考文献[6]修改)

Fig.1 Classification of autophagy (modified from reference [6])

白在病毒粒子成熟时会裂解为VP2和VP4蛋白^[2-3], 1型鸭甲肝病毒(DHAV-1)非结构蛋白2A蛋白会裂解为2A₁、2A₂和2A₃蛋白^[4]。

自噬(autophagy)是指任何涉及将细胞质中待降解物质输送到溶酶体(lysosome)的细胞降解途径。根据它们的生理功能和向溶酶体运输物质的方式不同,自噬可分为巨自噬(macroautophagy)(图1A)、微自噬(microautophagy)(图1B)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)(图1C)^[5-6]。巨自噬是维持细胞稳态的溶酶体降解途径或再循环过程^[7]。通常大家所说的自噬为巨自噬。微自噬是指溶酶体(哺乳动物)或液泡(植物和真菌)直接吞噬细胞质的过程^[8]。分子伴侣介导的自噬是指具有特殊基序(special motif)的胞质蛋白被分子伴侣(chaperone)识别后,与溶酶体膜上的特殊受体蛋白LAMP2A结合,进而进入溶酶体被降解的过程。在长期营养缺乏的情况下,CMA负责降解30%的胞质蛋白^[9-10]。目前小RNA病毒科中报道最多的是巨自噬,巨自噬主要由几个步骤组成,包括自噬的起始、自噬体(autophagosome)的形成、自噬溶酶体的形成和自噬溶酶体(autolysosome)降解4个过程。

1 小RNA病毒诱导细胞自噬发生

自噬是在自噬相关基因的调控下利用溶酶体降解受损细胞器和大分子物质的过程。目前已报道

有30多个自噬相关基因(autophagy related gene, Atg)参与自噬的调节,其中影响自噬的主要复合物为ULK复合物、PI3KIII复合物和Atg5-Atg12复合物,小RNA病毒主要通过这些自噬相关基因及其复合物调控细胞自噬的4个过程。

1.1 小RNA病毒影响自噬的起始

ULK复合物由ULK1(unc-51 like autophagy activating kinase 1)、Atg13、FIP200(focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kDa)和Atg101构成,其中ULK1在酵母中的同源蛋白是Atg1,其与Atg1蛋白相似都具有自噬启动的功能。研究表明,FIP200与ULK1之间存在相互作用,且对自噬至关重要^[11]。ZHOU等^[12]的研究发现,自噬受体蛋白CCPG1(cell cycle progression 1)的FIR2基序的磷酸化修饰以及自噬受体蛋白Optineurin的LIR基序的磷酸化修饰,通过调控和增强FIP200 Claw结构域与CCPG1 FIR2基序或Optineurin LIR基序的相互作用,从而达到调节选择性自噬起始的作用。磷酸化调节自噬受体与FIP200爪结构域的结合,Atg13在FIP200和ULK1相互作用时参与ULK复合物的形成。HOSOKAWA等^[13]通过siRNA敲低Atg13蛋白,发现siRNA处理的细胞中LC3的酯化、p62的降解以及GFP-LC3的点状聚集都受到了抑制,表明Atg13对于自噬体的形成至关重要。同年另一研究报道,Atg101直接与Atg13相互作用,且Atg101能稳定Atg13在细胞中的表达,促进Atg13的功能发挥,以上说明Atg101也

参与ULK复合物形成从而影响自噬体的形成^[14]。但自噬的启动不一定依赖于ULK复合物, 比如有学者在感染PV期间, 采用敲除PB1CC1/FIP200以及使用ULK1/ULK2抑制剂MRT68921等方法敲低ULK的表达, 其上下游复合物都不受影响, PV复制也不受影响, 说明PV独立于ULK复合物诱导自噬的发生^[15]。

1.2 小RNA病毒影响自噬体的形成

在酵母和哺乳动物中, PI3KC3复合物对自噬体的形成至关重要, 其主要由Vps34、p150和Beclin1蛋白构成。根据PI3K(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate3-kinase)结构特征和特异性, 其被分为I类PI3K、II类PI3K和III类PI3K, PI3KC3为第III类PI3K^[16-17]。Beclin1在酵母中的同源物是Atg6/Vps30, 也被称作BECN1。Beclin1是在1998年被发现的, 当时为了研究B细胞淋巴瘤/白血病-2(B-cell lymphoma/Leukemia-2, Bcl-2)防止中枢神经系统 Sindbis病毒感染的潜在机制, 作者进行了酵母双杂交筛选, 筛选到了一种新的卷曲螺旋蛋白, 将其命名为Beclin1。Beclin1对于PI3KC3复合物的形成及自噬的调节都尤为重要。许多研究表明, Beclin1与众多蛋白质相互作用, 形成多种功能不同的复合物, 这使Beclin1能够对调节自噬的不同信号做出反应^[18-20]。Beclin1互作的结构域主要有3个: Bcl-2-同源-3结构域(BH3)、中央卷曲螺旋结构域(CCD)和C-端进化保守域(ECD)^[21]。BH3结构域与Bcl2结合, CCD结构域对于Atg14L和UVRAG的组装是必要的^[22]。Beclin1在复合物中的作用主要是调节PI3KC3催化单元Vps34的脂质激酶活性, Vps34合成磷脂酰肌醇3-磷酸(phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P)招募多种效应分子, 这些效应分子分别参与了自噬体的形成以及自噬体与溶酶体的融合。EV71非结构蛋白3D通过与Beclin1的CCD结构域和ECD结构域相互作用促进EV71病毒的复制^[23]。EV71感染中发现miRNA(microRNA)与病毒感染和复制相关, 为进一步探究microRNA与自噬及病毒复制之间的关系, 经过筛选发现宿主细胞miR-30a与Beclin-1的3' UTR结合, 通过抑制Beclin-1的表达来抑制EV71诱导的自噬, 从而抑制EV71细胞内复制和细胞外释放^[24]。

除PI3KC3复合物以外, Atg5-Atg12-Atg16L系统也具有促进双层囊泡延伸和自噬体形成的作用。Atg12被类E1泛素活化酶Atg7激活, 然后被传递给类E2泛素活化酶Atg10, 最后与Atg5结合形成Atg12-

Atg5复合物, 之后与Atg16L进一步形成复合物定位于自噬体外膜上。Atg5-Atg12-Atg16L复合物通过激活Atg3酶活性从而促进LC3转移到磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)上, Atg5-Atg12-Atg16L复合物会在自噬体形成后从自噬囊泡的膜结构中释放出来^[25]。FMDV感染前期能迅速诱导细胞自噬, 但在感染2~5 h后其3C^{pro}蛋白能够切割Atg5-Atg12从而抑制自噬的抗病毒作用^[26]。

1.3 小RNA病毒影响自噬溶酶体的形成

自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 具有降解细胞内受损细胞器和错误折叠蛋白质的功能。当病毒感染诱导自噬发生, 病毒为维持自身的复制, 自噬溶酶体的形成会受到一定的影响。EV71的2BC蛋白与N-乙基马来酰亚胺敏感性因子附着型的蛋白受体(N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment receptor, SNARE)相互作用促进自噬溶酶体的形成^[27]。FMDV的2C蛋白通过与Beclin1相互作用阻止溶酶体与自噬体的融合, 从而使病毒存活^[28]。CA16感染诱导不完全自噬, 其非结构蛋白2C和3C阻止自噬体与溶酶体的融合^[29]。

1.4 小RNA病毒影响自噬溶酶体的降解

前面提到自噬溶酶体的形成会受到病毒感染的影响, 有研究表明自噬溶酶体的降解过程会影响病毒的复制, 病毒为了自身生存又进化出阻止自噬溶酶体降解的能力。SQSTM1作为自噬溶酶体降解的标志蛋白在检测自噬溶酶体降解是否顺利方面发挥着重要作用, SVV的VP1和VP3蛋白被SQSTM1蛋白靶向吞噬细胞进行降解以抑制病毒复制; SVV为了自身生存, 通过其非结构蛋白3C^{pro}靶向受体SQSTM1, 并在SQSTM1第355位谷氨酸、392位和395位谷氨酰胺处对其进行切割, 消除其介导选择性自噬的能力, 使得SQSTM1对病毒复制的抑制得到消除^[30]。

2 小RNA病毒通过信号通路诱导自噬的发生

自噬受到诸多信号通路的影响, 其中PI3K/AKT/mTOR以及内质网应激相关信号通路在调控自噬方面发挥着重要的作用。小RNA病毒诱导自噬同样经过了这些信号通路, 并且研究进一步深入到病毒蛋白与自噬相关蛋白互作的层面(图2)。

2.1 通过PI3K/AKT/mTOR信号通路诱导自噬

PI3K/AKT/mTOR信号通路在信号转导及生

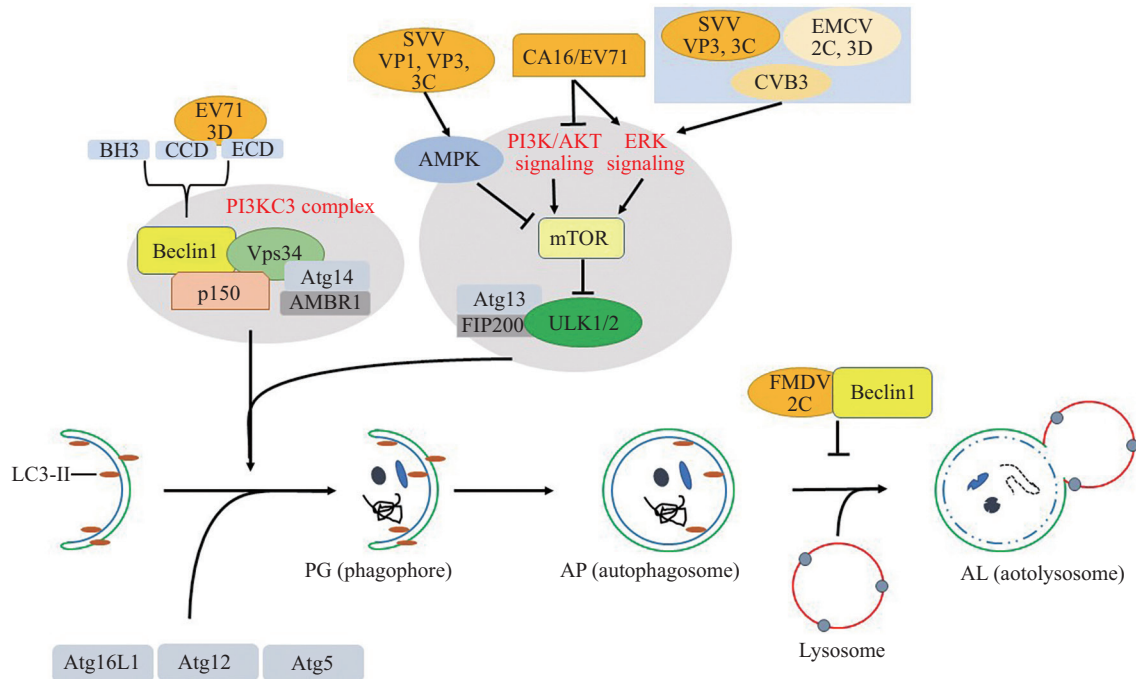


图2 小RNA病毒诱导自噬发生的信号通路(根据参考文献[6,17]修改)

Fig.2 The signal pathway of picornavirus inducing autophagy (modified from references [6,17])

物过程如调节细胞周期、增殖、凋亡和自噬等方面起着重要作用。PI3K在前面有提到可以分为三类,研究最多的是I类PI3K。PI3K被激活产生磷脂酰肌醇-3,4,5-二磷酸(phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate, PIP3), PIP3与细胞内信号蛋白AKT(丝氨酸/苏氨酸激酶,又名蛋白激酶B, protein kinase B, PKB)和PDK1(phosphoinositide dependent kinase-1)结合,促使PDK1磷酸化AKT蛋白的Ser308导致AKT活化。活化的AKT通过磷酸化多种酶、激酶和转录因子等下游因子,进而调节细胞的功能^[31]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR),是PI3K/AKT下游的一种重要的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,属于磷脂酰肌醇3-激酶相关激酶(phosphoinositide 3-kinases, PI3Ks)家族,是两种不同复合物(mTORC1和mTORC2)的关键组成部分。mTORC1由mTOR、Raptor和mLST8组成,主要控制细胞生长,对雷帕霉素(rapamycin)敏感;而mTORC2由mTOR、Rictor、Sin1和mLST1组成,其参与控制细胞的生存和增殖,对rapamycin不敏感^[32-35]。PI3K/AKT/mTOR信号通路在先前的研究中主要集中在作为癌症等疾病药物治疗的靶点发挥作用^[36-38],近几年PI3K/AKT/mTOR信号通路在凋亡及自噬等方面的研究增多^[39-42]。

小RNA病毒科肠道病毒属成员柯萨奇病毒CVB3是引起病毒性心肌炎的重要病原体。CHANG等^[43]通过采用PI3K、AKT和mTOR抑制剂证明了CVB3可以通过PI3K/AKT/mTOR信号途径参与诱导自噬。用ZSTK474抑制PI3K可缓解自噬,减少CVB3的复制和VP1蛋白的表达;用rapamycin抑制mTOR、用MK2206抑制AKT,均会促进自噬和病毒复制。柯萨奇病毒A16和EV71通过抑制AKT/mTOR信号和激活ERK通路激活自噬^[29-44]。塞内卡谷病毒(seneca valley virus, SVV)衣壳蛋白VP1的表达促进了AKT的磷酸化和单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)磷酸化,而使mTOR的磷酸化受到了抑制,表明VP1通过AKT-AMPK-mTOR通路诱导自噬。此外还发现VP3和3C的表达通过ERK1/2 MAPK-mTOR和p38 MAPK-mTOR通路可以激活自噬^[45]。上述结果表明,SVV主要通过其病毒蛋白VP1、VP3和3C激活AKT-AMPK-MAPK-mTOR通路来激活自噬从而促进自身复制。

2.2 通过内质网应激诱导自噬

内质网应激(ER stress)是细胞为应对内质网腔内错误折叠与未折叠蛋白聚集以及钙离子平衡紊乱等状况,而激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)、内质网相关蛋白降解(endoplasmic

reticulum associated degradation, ERAD)和自噬等信号通路的反应过程^[46]。EMCV的VP1、VP3、VP4、2B、2C、3A和3D蛋白能够诱导pEGFP-LC3发生点状聚集现象,其中只有2C和3D蛋白能显著促进LC3-II的表达及p62蛋白的降解,并且通过Western blot实验发现2C和3D蛋白能够调节未折叠蛋白表达,说明2C和3D蛋白是通过激活内质网应激通路影响自噬的^[47]。柯萨奇病毒CVB3通过内质网应激诱导HeLa细胞发生自噬,在CVB3感染的HeLa细胞中,ATF6、XBP1被剪切,并且IRE1、PERK和eIF2 α 磷酸化增加。且当使用ATF6、IRE1和PERK抑制剂时,细胞内LC3-II/LC3-I值下降,自噬受到了抑制。上述结果表明, CVB3通过3个途径即ATF6途径、IRE1-XBP1通路和PERK-eIF2 α 途径参与了自噬的调节^[48],但CVB3不能诱导完整的自噬通量,即自噬溶酶体融合受到了抑制^[49]。EV71通过内质网应激介导PMP22上调,促进小鼠雪旺细胞自噬^[50]。

真核起始因子2 α (eukaryotic translation initiation factor 2 subunit alpha, EIF2 α , 又称EIF2S1)是内质网应激诱导的翻译调节的核心分子,对饥饿诱导的自噬是必需的。研究报道, FMDV感染会诱导自噬, KIM等^[51-52]通过感染FMDV发现EIF2S1蛋白的磷酸化水平增加, ATF4的蛋白水平也增加, 质谱分析发现FMDV的结构蛋白VP2能与热休克蛋白B1(heat shock protein B1, HSPB1)相互作用。HSPB1蛋白是属于小热休克蛋白家族的无所不在的分子伴侣,可促进蛋白质折叠和去除异常蛋白, HSPB1也具有调节自噬的作用。FMDV结构蛋白VP2与HSPB1蛋白的相互作用激活了EIF2S1-ATF4通路,从而诱导自噬并促进FMDV的复制^[53]。

3 自噬与小RNA病毒复制的关系

自噬与病毒复制的关系同病毒与免疫的关系相似,病毒会被免疫系统消除也可以利用免疫系统促进自身复制。同理,小RNA病毒可通过诱导自噬促进自身复制,也可以颠覆自噬促进病毒复制,甚至有的小RNA病毒诱导自噬在前期抑制自身复制,而在后期又进化出绕过自噬的机制来消除对病毒复制的影响。

3.1 口蹄疫病毒属

FMDV引起的口蹄疫,是发生于牛、羊等偶蹄动物上的一种急性、热性、高度接触性传染病。

FMDV通过诱导自噬促进自身复制, O'DONNELL等^[54]采用自噬诱导剂rapamycin诱导自噬发生发现增加了病毒产量,用自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤或干扰RNA抑制自噬体途径发现病毒复制受到抑制。这些表明,自噬可能在口蹄疫病毒的复制过程中发挥了重要作用。众所周知干扰素反应抑制RNA病毒的复制, FMDV也不例外,但病毒为了自身复制会进化出逃避干扰素反应的机制。例如在YANG等^[55]的研究中发现, FMDV进化出抑制干扰素信号转导以及通过自噬对抗宿主天然抗病毒反应的新机制, Ras-GTP酶激活SH3结构域结合蛋白1[GTPase-activating protein-(SH3 domain)-binding protein 1, G3BP1]是哺乳动物细胞应激颗粒(stress granules, SG)的关键成分,在细胞抗病毒免疫特别是抗RNA病毒免疫中具有重要作用。FMDV通过其非结构蛋白3A与G3BP1相互作用,通过上调自噬相关蛋白LRRC25的表达促进自噬发生,并抑制G3BP1的表达及其介导的RLH信号转导,从而促进其自身的复制^[56]。

3.2 肠道病毒属

3.2.1 肠道病毒71型 EV71是引起婴幼儿手足口病的主要病原体之一。研究表明,自噬对EV71复制具有重要作用,抑制自噬会抑制EV71的病毒复制^[57-59]。研究发现, EV71诱导自噬通过p38 MAPK和ERK信号通路调节白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的产生^[60],还可以通过诱导自噬下调TLR7、MyD88和IRF7等IFN相关蛋白的表达,促进病毒的复制^[61]。WANG等^[62]利用EV71的新型抗病毒药物BBR(berberine),发现BBR可以激活AKT以及通过抑制JNK和PI3KC3蛋白的磷酸化来抑制EV71引起的自噬,从而抑制EV71的复制。综上, EV71诱导的自噬对病毒复制至关重要。同理自噬与EV-A71复制的研究也证明了自噬对病毒复制的促进作用,研究发现EV-A71结构蛋白VP1的C-端可以与线粒体内膜自噬受体PHB2相互作用,当PHB2被敲低后自噬会受到抑制, EV-A71的复制、病毒颗粒释放以及病毒蛋白合成都减少,表明PHB2与VP1的相互作用是诱导自噬和促进EV-A71复制的必要条件^[63]。

3.2.2 柯萨奇病毒 CVB3是一类常见的经呼吸道和消化道感染人体的病毒,感染后人会出现发热、打喷嚏、咳嗽等感冒症状。SHI等^[64]在CVB3感染细胞实验中,使用CQ、3-MA和BAF等自噬抑制剂研究CVB3与自噬的关系,发现3-MA抑制剂处理的

细胞中LC3-II/LC3-I值下降, VP1蛋白表达受到抑制, 病毒滴度降低; 另外在siAtg5的干扰下, 自噬体形成受阻, CVB3复制受到抑制, 表明CVB3诱导的自噬体形成对病毒的复制至关重要, 即CVB3诱导的自噬促进CVB3的复制, 一旦自噬受到影响病毒复制就会受到抑制。但其他学者的研究发现CVB3诱导的自噬与病毒复制之间的关联取决于感染的时间。PI3K和mTOR是PI3K/AKT/mTOR信号通路上的关键分子, 此信号通路为调控自噬的一条经典通路。CHANG等^[65]通过使用PI3K抑制剂ZSTK474和mTOR抑制剂rapamycin探究自噬与病毒复制的关系, 发现PI3K抑制剂ZSTK474和mTOR抑制剂rapamycin促进了CVB3诱导的自噬, 并抑制了CVB3感染后6 h和9 h的病毒复制和降低了衣壳蛋白VP1的表达水平; ZSTK474在病毒感染后12 h和24 h减弱了CVB3诱导的自噬, CVB3的复制和VP1蛋白的表达受到抑制, 表明病毒感染前期诱导自噬抑制了病毒复制。然而, 在CVB3感染后12 h和24 h, rapamycin继续促进CVB3诱导的自噬并促进CVB3复制, 并在感染后12 h增加VP1的表达, 表明病毒感染后期rapamycin诱导自噬促进病毒复制。综上, 在CVB3感染过程的早期, 自噬可以帮助宿主细胞清除病毒, 从而为细胞提供保护, 而当感染时间增加时, 自噬有利于病毒复制。这一结果和病毒与免疫的关系类似, 即有的病毒会被细胞免疫清除, 而有的病毒却能通过免疫逃逸或者利用细胞免疫促进自身的增殖。

3.2.3 脊髓灰质炎病毒 PV是引起脊髓灰质炎的病毒, 病毒常侵犯中枢神经系统, 损害脊髓前角运动神经细胞, 导致肢体松弛性麻痹。先前的研究表明, 小RNA病毒科大多数成员是通过诱导自噬来促进自身复制的, 但近期研究表明, 小RNA病毒科内某些成员诱导自噬的作用与其他病毒不同, 即通过抑制自噬来促进病毒复制^[66]。其中第一个被证实颠覆自噬作用的是脊髓灰质炎病毒, PV是通过破坏自噬途径来促进自身的复制, 而且PV诱导自噬的启动也不同于其他病毒, 其自噬的起始独立于ULK1复合物^[15], 但PV与其他同科病毒不同的原因还需进一步研究。

3.3 心病毒属

脑心肌炎病毒(encephalomyocarditis virus, EMCV)是一种重要的人畜共患病病原, 会引起猪和某些哺乳动物、啮齿动物乃至灵长类动物的一种以脑炎、心肌炎或心肌周围炎为主要特征的急性传染

病。EMCV在宿主细胞的复制需要自噬。ZHANG等^[67]通过共聚焦显微镜观察, 发现EMCV的非结构蛋白3A和衣壳蛋白VP1能与LC3发生共定位; 为进一步确定EMCV复制的位点, 使用抗VP1和抗3A蛋白免疫金标记对EMCV感染的BHK-21细胞进行了免疫电子显微镜相关技术实验, 发现大多数的3A和VP1蛋白能与自噬体样囊泡共定位, 表明EMCV在自噬体膜上进行RNA的复制; 当使用抑制剂以及siRNA抑制自噬的时候发现EMCV复制减少。综上这些研究结果表明, 自噬促进EMCV在宿主细胞中的复制。

4 结语和展望

自噬是细胞的一种自我保护机制, 对于细胞存活起着重要的作用。小RNA病毒作为细胞的“侵入者”, 既能被细胞自噬所清除, 也可以逃避细胞免疫利用细胞自噬促进自身复制。随着研究的深入, 病毒与自噬的关系逐渐深入到它们的分子机制, 如病毒蛋白与自噬相关蛋白互作。病毒与自噬的分子关系对于病毒的防控至关重要, 药物通过影响自噬从而影响病毒复制的研究也逐渐引起人们的重视, 这些都应作为今后研究的重点, 为小RNA病毒疾病的治疗提供思路。

参考文献 (References)

- [1] RUECKERT R R, WIMMER E. Systematic nomenclature of picornavirus proteins [J]. *J Virol*, 1984, 50(3): 957-9.
- [2] CURRY S, ABRAMS C C, FRY E, et al. Viral rna modulates the acid sensitivity of foot-and-mouth disease virus capsids [J]. *J Virol*, 1995, 69(1): 430-8.
- [3] HINDIYEH M, LI Q H, BASAVAPPA R, et al. Poliovirus mutants at histidine 195 of vp2 do not cleave vp0 into vp2 and vp4 [J]. *J Virol*, 1999, 73(11): 9072-9.
- [4] YANG X, ZENG Q, WANG M, et al. Dhav-1 2a1 peptide-a newly discovered co-expression tool that mediates the ribosomal “skipping” function [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2727.
- [5] LEVINE B, KROEMER G. Autophagy in the pathogenesis of disease [J]. *Cell*, 2008, 132(1): 27-42.
- [6] KLIONSKY D J, ABDELMOHSEN K, ABE A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) [J]. *Autophagy*, 2016, 12(1): 1-222.
- [7] AL-BARI A A, XU P Y. Molecular regulation of autophagy machinery by mTOR-dependent and -independent pathways [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2020, 1467(1): 3-20.
- [8] LI W W, LI J, BAO J K. Microautophagy: lesser-known self-eating [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(7): 1125-36.
- [9] DICE J F. Chaperone-mediated autophagy [J]. *Autophagy*, 2007, 3(4): 295-9.

- [10] CUERVO A M. Chaperone-mediated autophagy: dice's 'wild' idea about lysosomal selectivity [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12(8): 535-41.
- [11] HARA T, TAKAMURA A, KISHI C, et al. Fip200, a ulk-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells [J]. *J Cell Biol*, 2008, 181(3): 497-510.
- [12] ZHOU Z, LIU J, FU T, et al. Phosphorylation regulates the binding of autophagy receptors to fip200 claw domain for selective autophagy initiation [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1570.
- [13] HOSOKAWA N, HARA T, KAIZUKA T, et al. Nutrient-dependent mtorc1 association with the ulk1-atg13-fip200 complex required for autophagy [J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7): 1981-91.
- [14] MERCER C A, KALIAPPAN A, DENNIS P B. A novel, human atg13 binding protein, atg101, interacts with ulk1 and is essential for macroautophagy [J]. *Autophagy*, 2009, 5(5): 649-62.
- [15] CORONA VELAZQUEZ A, CORONA A K, KLEIN K A, et al. Poliovirus induces autophagic signaling independent of the ulk1 complex [J]. *Autophagy*, 2018, 14(7): 1201-13.
- [16] LIU P, CHENG H, ROBERTS T M, et al. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(8): 627-44.
- [17] XU Z, HAN X, OU D, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy for tumor therapy [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(2): 575-87.
- [18] WIRTH M, JOACHIM J, TOOZE S A. Autophagosome formation-the role of ulk1 and beclin1-pi3kc3 complexes in setting the stage [J]. *Semin Cancer Biol*, 2013, 23(5): 301-9.
- [19] MAIURI M C, CRIOLLO A, KROEMER G. Crosstalk between apoptosis and autophagy within the beclin 1 interactome [J]. *EMBO J*, 2010, 29(3): 515-6.
- [20] HE C, LEVINE B. The beclin 1 interactome [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2): 140-9.
- [21] MORRIS D H, YIP C K, SHI Y, et al. Beclin 1-vps34 complex architecture: understanding the nuts and bolts of therapeutic targets [J]. *Front Biol*, 2015, 10(5): 398-426.
- [22] MATSUNAGA K, NODA T, YOSHIMORI T. Binding rubicon to cross the rubicon [J]. *Autophagy*, 2009, 5(6): 876-7.
- [23] XIANG Q, WAN P, YANG G, et al. Beclin1 binds to enterovirus 71 3d protein to promote the virus replication [J]. *Viruses*, 2020, 12(7): 756.
- [24] FU Y, XU W, CHEN D, et al. Enterovirus 71 induces autophagy by regulating has-mir-30a expression to promote viral replication [J]. *Antiviral Res*, 2015, 124: 43-53.
- [25] LI W, ZHANG L. Regulation of atg and autophagy initiation [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 41-65.
- [26] FAN X, HAN S, YAN D, et al. Foot-and-mouth disease virus infection suppresses autophagy and NF- κ B antiviral responses via degradation of atg5-atg12 by 3c(pro) [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(1): e2561.
- [27] LAI J K F, SAM I C, VERLHAC P, et al. 2bc non-structural protein of enterovirus a71 interacts with snare proteins to trigger autolysosome formation [J]. *Viruses*, 2017, 9(7): 169.
- [28] GLADUE D P, O'DONNELL V, BAKER-BRANSTETTER R, et al. Foot-and-mouth disease virus nonstructural protein 2c interacts with beclin1, modulating virus replication [J]. *J Virol*, 2012, 86(22): 12080-90.
- [29] SHI Y, HE X, ZHU G, et al. Coxsackievirus a16 elicits incomplete autophagy involving the mtor and erk pathways [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0122109.
- [30] WEN W, LI X, YIN M, et al. Selective autophagy receptor sqstm1/p62 inhibits seneca valley virus replication by targeting viral vp1 and vp3 [J]. *Autophagy*, 2021, 17(11): 3763-75.
- [31] LIEN E C, DIBBLE C C, TOKER A. PI3K signaling in cancer: beyond AKT [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 45: 62-71.
- [32] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease [J]. *Cell*, 2017, 169(2): 361-71.
- [33] CONDON K J, SABATINI D M. Nutrient regulation of mtorc1 at a glance [J]. *J Cell Sci*, 2019, 132(21): jcs22570.
- [34] MURUGAN A K. Mtor: role in cancer, metastasis and drug resistance [J]. *Semin Cancer Biol*, 2019, 59: 92-111.
- [35] XU F, NA L, LI Y, et al. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathways in neurodegenerative diseases and tumours [J]. *Cell Biosci*, 2020, 10(1): 54.
- [36] XIA P, XU X Y. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(5): 1602-9.
- [37] WU P, HU Y Z. PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors in cancer: a perspective on clinical progress [J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(35): 4326-41.
- [38] ZHOU Q, LUI V W, YEO W. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Future Oncol*, 2011, 7(10): 1149-67.
- [39] YANG J, PI C, WANG G. Inhibition of PI3K/AKT/mTOR pathway by apigenin induces apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 699-707.
- [40] HERAS-SANDOVAL D, PÉREZ-ROJAS J M, HERNÁNDEZ-DAMIÁN J, et al. The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration [J]. *Cellular Signal*, 2014, 26(12): 2694-701.
- [41] ZHOU J, JIANG Y Y, CHEN H, et al. Tanshinone I attenuates the malignant biological properties of ovarian cancer by inducing apoptosis and autophagy via the inactivation of PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(2): e12739.
- [42] RONG L, LI Z, LENG X, et al. Salidroside induces apoptosis and protective autophagy in human gastric cancer cells through the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122: 109726.
- [43] CHANG H, LI X, CAI Q, et al. The PI3K/AKT/mTOR pathway is involved in CVB3-induced autophagy of hela cells [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(1): 182-92.
- [44] WANG B, ZHU Y, LIU L, et al. Enterovirus 71 induces autophagy in mice via mTOR inhibition and ERK pathway activation [J]. *Life Sci*, 2021, 271: 119188.
- [45] SONG J, HOU L, QUAN R, et al. Synergetic contributions of viral VP1, VP3, and 3C to activation of the AKT-AMPK-MAPK-mTOR signaling pathway for seneca valley virus-induced autophagy [J]. *J Virol*, 2022, 96(2): e0155021.
- [46] SENFT D, RONAI Z A. Upr, autophagy, and mitochondria crosstalk underlies the er stress response [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40(3): 141-8.
- [47] HOU L, GE X, XIN L, et al. Nonstructural proteins 2c and 3d are involved in autophagy as induced by the encephalomyocarditis

- virus [J]. Virol J, 2014, 11: 156.
- [48] LUO X N, YAO H L, SONG J, et al. Coxsackievirus b3 infection triggers autophagy through 3 pathways of endoplasmic reticulum stress [J]. Biomed Environ Sci, 2018, 31(12): 867-75.
- [49] TIAN L, YANG Y, LI C, et al. The cytotoxicity of coxsackievirus b3 is associated with a blockage of autophagic flux mediated by reduced syntaxin 17 expression [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 242.
- [50] LI P, YANG S, HU D, et al. Enterovirus 71 vp1 promotes mouse schwann cell autophagy via er stress-mediated pmp22 upregulation [J]. Int J Mol Med, 2019, 44(2): 759-67.
- [51] KIM J E, KO A R, HYUN H W, et al. P2RX7-MAPK1/2-SP1 axis inhibits mtor independent hspb1-mediated astroglial autophagy [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(5): 546.
- [52] HAIDAR M, ASSELBERGH B, ADRIAENSSENS E, et al. Neuropathy-causing mutations in hspb1 impair autophagy by disturbing the formation of sqstm1/p62 bodies [J]. Autophagy, 2019, 15(6): 1051-68.
- [53] SUN P, ZHANG S, QIN X, et al. Foot-and-mouth disease virus capsid protein VP2 activates the cellular EIF2S1-ATF4 pathway and induces autophagy via HSPB1 [J]. Autophagy, 2018, 14(2): 336-46.
- [54] O'DONNELL V, PACHECO J M, LAROCCO M, et al. Foot-and-mouth disease virus utilizes an autophagic pathway during viral replication [J]. Virology, 2011, 410(1): 142-50.
- [55] YANG W, RU Y, REN J, et al. G3bp1 inhibits rna virus replication by positively regulating rig-i-mediated cellular antiviral response [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(12): 946.
- [56] YANG W, LI D, RU Y, et al. Foot-and-mouth disease virus 3A protein causes upregulation of autophagy-related protein LRRC25 to inhibit the G3BP1-mediated RIG-like helicase-signaling pathway [J]. J Virol, 2020, 94(8): e02086-19.
- [57] LEE Y R, WANG P S, WANG J R, et al. Enterovirus 71-induced autophagy increases viral replication and pathogenesis in a suckling mouse model [J]. J Biomed Sci, 2014, 21(1): 80.
- [58] HUANG S C, CHANG C L, WANG P S, et al. Enterovirus 71-induced autophagy detected *in vitro* and *in vivo* promotes viral replication [J]. J Med Virol, 2009, 81(7): 1241-52.
- [59] WANG H, LI K, MA L, et al. Berberine inhibits enterovirus 71 replication by downregulating the MEK/ERK signaling pathway and autophagy [J]. Virol J, 2017, 14(1): 2.
- [60] CAO L, ZHANG X, YUAN S, et al. Autophagy induced by enterovirus 71 regulates the production of IL-6 through the p38MAPK and ERK signaling pathways [J]. Microb Pathog, 2019, 131: 120-7.
- [61] SONG J, HU Y, LI J, et al. Suppression of the toll-like receptor 7-dependent type I interferon production pathway by autophagy resulting from enterovirus 71 and coxsackievirus a16 infections facilitates their replication [J]. Arch Virol, 2018, 163(1): 135-44.
- [62] WANG Y X, YANG L, WANG H Q, et al. Synthesis and evolution of berberine derivatives as a new class of antiviral agents against enterovirus 71 through the MEK/ERK pathway and autophagy [J]. Molecules, 2018, 23(8): 2084.
- [63] SU W, HUANG S, ZHU H, et al. Interaction between PHB2 and enterovirus a71 vp1 induces autophagy and affects ev-a71 infection [J]. Viruses, 2020, 12(4): 414.
- [64] SHI X, CHEN Z, TANG S, et al. Coxsackievirus b3 infection induces autophagic flux, and autophagosomes are critical for efficient viral replication [J]. Arch Virol, 2016, 161(8): 2197-205.
- [65] CHANG H, TIAN L, CHEN J, et al. Rapamycin and zstk474 can have differential effects at different post-infection time-points regarding CVB3 replication and CVB3-induced autophagy [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(1): 1088-94.
- [66] KLEIN K A, JACKSON W T. Picornavirus subversion of the autophagy pathway [J]. Viruses, 2011, 3(9): 1549-61.
- [67] ZHANG Y, LI Z, GE X, et al. Autophagy promotes the replication of encephalomyocarditis virus in host cells [J]. Autophagy, 2011, 7(6): 613-28.