REVIEW

Studium interakce receptoru pro hemaglutinin

Petr Michálek[a], Ondřej Zítka[a,b], René Kizek[a,b]

[a] Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

[b] Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Technická 10, 616 00 Brno, Česká republika

Study of interaction of the receptor for the hemagglutinin.

Influenza viruses compared to other viruses are characterized by considerable genetic variability. From the view of the ability of the virus to infect the host cell the determining factor is the structure of the surface antigens of the virus and the host cell receptor structure. To change the preferential binding of the virus to various cell receptors just one amino acid substitution in the primary structure of hemagglutinin is enough. The cause of this change in the antigenic properties is either the antigenic shift or antigenic shift. Thereby, new influenza strains with new antigenic type can develop very quickly and a human population is not capable to immunologically distinguished it with sufficient speed. Yet widely used drugs are increasingly perceived as controversial, due to their declining benefits and vice versa to growing negative effects. And despite considerable progress in the research of influenza viruses and their receptors at the molecular and structural level no sufficiently effective alternative has not been introduced yet.

Přijato k publikování: 13. 5. 2014
Klíčová slova: hemaglutinin; chřipka; léčba; sialová kyselina;

Úvod

Pandemie chřipky H1N1 v roce 1918 měla celosvětově za následek více než 50 milionů úmrtí, obdobně i chřipka H5N1 vyniká mezi ostatními typy chřipky značnou virulencí pro člověka. I přes narůstající počty očkovaných v populaci a účinnější léčbu, je sezónní chřipka stále zodpovědna za více než 250000 úmrtí ročně a desítky milionů onemocnění dýchacích cest po celém světě [1-3]. Písmena H a N v názvech chřipky odkazují na subtypy glykoproteinu hemaglutininu a neuraminidázy, které jsou přítomny na povrchu viru chřipky (RNA virus z čeledi *Orthomyxoviridae*)[4]. Hemaglutinin může být rozdělen do dvou fylogeneticky rozdílných skupin: H1, H2, H5, H6, H8, H9, H11, H12, H13, H16 a H3, H4, H7, H10, H14, H15[5]. Všechny tyto subtypy jsou přenosné mezi ptáky. Člověk je vnímavý pouze ke třem subtypům: H1, H2 a H3[6]. Hemaglutinin umožňuje viru proniknout do lidské epiteliální buňky plic vazbou na glykoproteiny obsahující kyselinu sialovou. Nízké pH prostředí indukuje konformační změnu hemaglutininu a umožňuje vazbu k endosomální stěně a uvolnění virové RNA do buňky [7]. Neuraminidáza odštěpuje kyselinu sialovou od nově vznikajících virionů a buněčných glykokonjugátů na povrchu virionů a zajišťuje tak uvolnění nově vytvořených virionů z infikované buňky [5].

Struktura a funkce hemaglutininu

Hemaglutinin je homotrimer, jehož každý monomer je syntetizován jako samostatný polypeptid (HA0), ze kterého vzniknou po proteolytickém štěpení dvě podjednotky (HA1, HA2)[8,9]. HA1 je s HA2 propojen dvěma intramonomerními disulfidickými můstky vytvořenými během skládání HA0 v endoplazmatickém retikulu[10]. Rozštěpení prekurzoru je zásadní nejen pro aktivaci procesu fúze membrán, ale i pro infekčnost virové částice[11]. Po rozštěpení proteázou se HA struktury zkombinují za vzniku metastabilního trimeru ve tvaru houby. Tato forma hemaglutininu má dvě oblasti: kulovitou část tvořenou z antiparalelních ß-listů a oblast kmene složenou ze tří α-šroubovic, tvořících spirálu[12]. Globulární část, neboli receptor váza-

jící oblast (HA1), obsahuje receptory vázající se ke kyselině sialové, které umožňují vazbu viru na kyselinu sialovou na povrchu epiteliálních buněk dýchacích cest[7]. K fúzi membrán dochází v endosomech při kyselém pH, které indukuje nevratnou reorganizaci HA struktury[13].

Patogenita

Shopnost vyvolat pandemii celosvětového významu mají jen některé subtypy chřipky typu A. Převážná část kmenů patří mezi sezónní a většina z nich nevykazuje vysokou virulenci. Patogenita viru je dána mnoha faktory. Jedním z faktorů, které ovlivňují schopnost viru vyvolat onemocnění, je proteázová aktivita. Většina kmenů chřipky obsahují pouze arginin jako spojení mezi HA1 a HA2 a proteázy, které mohou tuto vazbu rozštěpit, jsou vytvářeny pouze v plicním sputu[11]. Nicméně, mnoho vysoce patogenních kmenů obsahuje v této struktuře další aminokyseliny, které mohou být aktivovány proteázami, které nejsou specifické pro dýchací cesty (např. furinové proteázy). V důsledku toho se mohou tyto vysoce patogenní kmeny šířit po celém těle[14].

Druhým faktorem je specificita sialové kyseliny receptorů pro daný subtyp hemaglutininu. Hemaglutinin rozpoznává glykany buněčných receptorů obsahující kyselinu sialovou. Způsob, jakým je terminální kyselina sialová vázána ke galaktose určuje druhovou preferenci viru. Posun ve specifitě hemaglutininu je pro virus chřipky zásadním krokem při překonávání mezidruhových bariér a adaptaci na nový druh hostitele. Například při adaptaci ptačí formy viru na lidskou se mění specifita hemaglutininu k typu vazby, jakým je kyselina sialová vázána, z α-2,3 na α-2,6 [9,15]. Pokud se jedná o možný přenos infekce z ptáků na lidskou populaci, jeví se jako předním uchazečem o roli mezihostitele pro přeskupení chřipkových virů A prase. Je totiž jediným druhem savců, který umožňuje produktivní replikaci ptačích a lidských chřipkových virů v důsledku přítomnosti receptorů pro oba typy virů (α-2,3 a α-2,6). To může vést k modifikaci receptoru virů ptačí chřipky z α-2,3 na α-2,6 vazby, čímž nabízí potenciální prostor pro přenos mezi ptákem a člověkem[16]. Jak ukazují některé studie [17-19], ke změně preferenční vazby sialové kyseliny stačí záměna v jedné aminokyselině v primární struktuře hemaglitininu.

Virus chřipky má pozoruhodnou schopnost uniknout obranným mechanismům hostitele tím, že mění svůj antigenní charakter, zejména prostřednictvím změny aminokyselinových zbytků v hemaglutininu, který hraje zásadní roli ve vazbě k receptoru hostitelské buňky. Tato vlastnost, označovaná jako antigenní drift, je způsobena postupným hromaděním drobných mutací, obvykle charakteru nukleotidových substitucí, ve virovém genomu, které vyústí ve změnu v antigenním místě. Oproti tomu antigenní shift se vyznačuje vznikem zcela nového subtypu, disponujícím buď novým subtypem samotného hemaglutininu nebo novým subtypem hemaglutininu i neuraminidázy. Takto vzniklý nový virus je antigenně odlišný od dříve se vyskytujících chřipkových virů v lidské populaci[20,21].

Léčba

Aktuálně je na trhu několik typů antivirotik s účinností proti chřipkovému viru. Prvním typem jsou antivirotika blokující M2 protein, mezi které patří amantadin a rimantadin, působící na chřipku typu A. Druhým jsou inhibitory neuraminidázy, kam patří oseltamivir a zanamivir, které jsou účinné na typy A i B. Obdobně jako u antibiotické léčby mají i virostatika paletu nežádoucích účinků a i zde je značné riziko vzniku rezistence [23,24]. Tato fakta podporují potřebu vyvinout nové antivirové léky cílené na jiná místa. Povrchové virové antigeny, podílející se na vstupu do buňky, jsou atraktivním cílem, protože jsou nezbytné jak pro vstup virové bílkoviny do buňky, tak z důvodu nutnosti jejich konformačních změn, které zajišťují jejich funkčnost a virulenci [25].

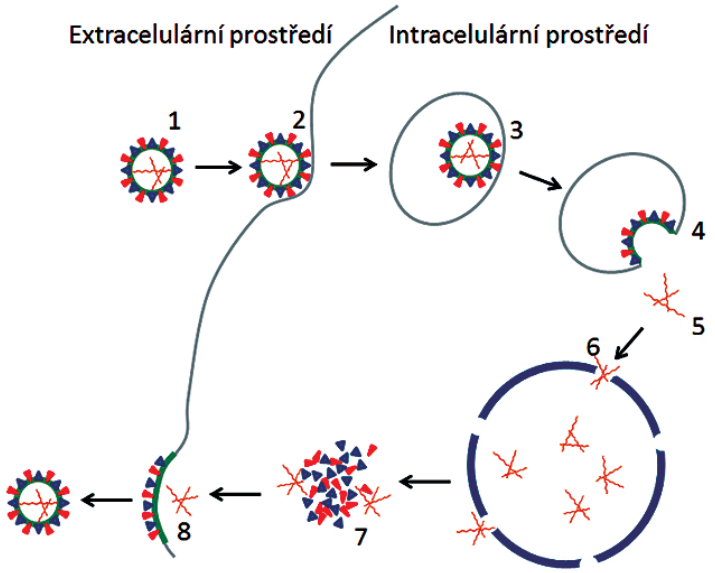
Peptidová terapie

Jedním z mechanismů účinku peptidů na virovou částici je ovlivnění pomocí sialovou kyselinu mimikujícího peptidu, který se váže na HA1 a HA3, a funguje tak jako inhibitor vazby hemaglutininu k cílové buňce [26]. Obdobným mechamismem patrně fungují i deriváty antivirových peptidů (AVPs),

získané z podjednotek HA1 a HA2 [27] a FluPep[28]. Také Entry blocker (EB), peptid o 20 aminokyselinách, odvozený ze signální sekvence fibroblastového růstového faktoru, inhibuje vazbu viru na buněčné receptory tím, že se specificky váže na hemaglutinin[28]. Dalším mechanismem účinku je inhibice hydrolýzy HA0 na HA1 a HA2, kdy toto rozštěpení umožňuje fi viru a hostitelské buňky[26]. Pokud tedy HA0 není štěpen za vzniku HA1 a HA2, nemůže dojít k fúzi. Proto chřipkové viry s nerozštěpeným HA0 nemohou vyvolat infekci. Mezi molekuly s tímto účinkem patří inhibitory proteáz [29,30], derivát lyzinu aminokapronová kyselina[31] a lipoproteinový komplex plicního surfaktantu [32].

Antisense terapie

Peptidem modifikované morfolino oligomery (PPMO) tvoří jednovláknovou DNA antisense sekvenci, která snadno vstupuje do buněk a je schopna stericky blokovat cRNA [33,34]. Použití některých z účinných PPMO vedlo k výraznému snížení hladiny mRNA, cRNA a vRNA v napadených buňkách. PPMO tvoří obvykle 20-25bp velké molekuly a jejich vstup do buněk je možno zefektivnit konjugací s peptidy bohytými na arginin (ARP), bez nutnosti dalších transfekčních metod a manipulací. Tyto konjugáty CPP-PMO (PPMO) jsou ve vodě rozpustné a v buňkách a v lidském séru stabilní po dobu několika hodin [35].



Virus chřipky (1) se váže (2) na kyselinu sialovou v glycocalyx plazmatické membrány. Vázaný virus je následně endocytován (3). Hemaglutinin je barevně označen červeně; neuraminidáza modře. Iontové kanály a lipidy virové obálky jsou označeny zeleně. V průběhu zrání endozomu klasá jeho pH a je zahájeno spojení (4) virové obálky (zelená) s endosomální membránou (šedá) a uvolnění virové RNA (5) (oranžová) a virových proteinů do cytosolu. Virová RNA vstupuje (6) do jádra, kde probíhá replikace. Nově vytvořená virová RNA (7) je exportována do cytosolu a společně se strukturálními proteiny vytváří (8) nové viriony (Obr. 1).

Závěr

Viry chřipky se vyznačují oproti ostatním virům značnou proměnlivostí genetické informace. Z hlediska schopnosti viru infikovat hostitelskou buňku je determinujícím činitelem struktura povrchových antigenů viru a struktura receptoru hostitelské buňky. Pro změnu preferenční vazby viru na různé receptory buňky stačí záměna v jedné aminokyselině v primární struktuře hemaglutininu. Příčinou změny antigennich vlastností je buď antigenní zvrat nebo antigenní posun. Vznikají tak nové kmeny chřipky s novým antigenním typem, který není lidská populace s dostatečnou rychlostí schopna imunologicky rozeznat. Dosud používaná léčiva jsou stále více vnímána jako kontroverzní, vzhledem k jejich snižujícím se benefitům a naopak rostoucím negativním vlivům. A i přes značný pokrok ve výzkumu chřipkových virů a jejich receptorů na molekulární a strukturní úrovni, nebyla dosud představena dostatečně efektivní alternativa.

Tato práce byla financována z projektu PGS23_2013

The authors declare they have no potential conflicts of interests concerning drugs, products, services or another research outputs in this study.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform reguirements“ for biomedical papers.

Literatura

1. Johnson N., Mueller J.: Bulletin of the History of Medicine, 76, 105 (2002).
2. Ginsberg J., Mohebbi M. H., Patel R. S., Brammer L., Smolinski M. S., Brilliant L.: Nature, 457, 1012 (2009).
3. Basler C. F., Aguilar P. V.: Antiviral Research, 79, 166 (2008).
4. Wiley D. C., Skehel J. J.: Annual Review of Biochemistry, 56, 365 (1987).
5. Russell R. J., Kerry P. S., Stevens D. J., Steinhauer D. A., Martin S. R., Gamblin S. J., Skehel J. J.: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105, 17736 (2008).
6. Gamblin S. J., Haire L. F., Russell R. J., Stevens D. J., Xiao B., Ha Y., Vasisht N., Steinhauer D. A., Daniels R. S., Elliot A., Wiley D. C., Skehel J. J.: Science, 303, 1838 (2004).
7. Madhusoodanan M., Lazaridis T.: Biophysical Journal, 84, 1926 (2003).
8. Skehel J. J., Wiley D. C.: Annual Review of Biochemistry, 69, 531 (2000).
9. Stevens J., Blixt O., Tumpey T. M., Taubenberger J. K., Paulson J. C., Wilson I. A.: Science, 312, 404 (2006).
10. Isin B., Doruker P., Bahar I.: Biophysical Journal, 82, 569 (2002).
11. Garten W., Klenk H. D.: Trends in Microbiology, 7, 99 (1999).
12. Gamblin S. J., Skehel J. J.: Journal of Biological Chemistry, 285, 28403 (2010).
13. Bullough P. A., Hughson F. M., Skehel J. J., Wiley D. C.: Nature, 371, 37 (1994).
14. Walker J. A., Molloy S. S., Thomas G., Sakaguchi T., Yoshida T., Chambers T. M., Kawaoka Y.: Journal of Virology, 68, 1213 (1994).
15. van Riel D., Munster V. J., de Wit E., Rimmelzwaan G. F., Fouchier R. A. M., Osterhaus A., Kuiken T.: Science, 312, 399 (2006).
16. Brown I. H.: Options for the Control of Influenza Iv, 1219, 173 (2001).
17. Matrosovich M., Tuzikov A., Bovin N., Gambaryan A., Klimov A., Castrucci M. R., Donatelli I., Kawaoka Y.: Journal of Virology, 74, 8502 (2000).
18. Glaser L., Stevens J., Zamarin D., Wilson I. A., Garcia-Sastre A., Tumpey T. M., Basler C. F., Taubenberger J. K., Palese P.: Journal of Virology, 79, 11533 (2005).
19. Rogers G. N., Paulson J. C., Daniels R. S., Skehel J. J., Wilson I. A., Wiley D. C.: Nature, 304, 76 (1983).
20. Chen J. Z., Deng Y. M.: Virology Journal, 6, (2009).
21. Carrat F., Flahault A.: Vaccine, 25, 6852 (2007).
22. Hamilton B. S., Whittaker G. R., Daniel S.: Viruses-Basel, 4, 1144 (2012).
23. Ilyushina N. A., Govorkova E. A., Webster R. G.: Virology, 341, 102 (2005).
24. Lackenby A., Thompson C. I., Democratis J.: Current Opinion in Infectious Diseases, 21, 626 (2008).
25. Torres J., et al.: Bioinformation, 8, 870 (2012).
26. Yang J., Li M. M., Shen X. T., Liu S. W.: Viruses-Basel, 5, 352 (2013).
27. Lopez-Martinez R., Ramirez-Salinas G. L., Correa-Basurto J., Barron B. L.: Plos One, 8, (2013).
28. Jones J. C., Turpin E. A., Bultmann H., Brandt C. R., Schultz-Cherry S.: Journal of Virology, 80, 11960 (2006).
29. Beppu Y., Imamura Y., Tashiro M., Towatari T., Ariga H., Kido H.: Journal of Biochemistry, 121, 309 (1997).
30. Zhirnov O. P., Ovcharenko A. V., Bukrinskaya A. G.: Journal of General Virology, 65, 191 (1984).
31. Kido H., Yokogoshi Y., Sakai K., Tashiro M., Kishino Y., Fukutomi A., Katunuma N.: Journal of Biological Chemistry, 267, 13573 (1992).
32. Kido H., Sakai K., Kishino Y., Tashiro M.: Febs Letters, 322, 115 (1993).
33. Bottcher-Friebertshauser E., Stein D. A., Klenk H. D., Garten W.: Journal of Virology, 85, 1554 (2011).
34. Lupfer C., Stein D. A., Mourich D. V., Tepper S. E., Iversen P. L., Pastey M.: Archives of Virology, 153, 929 (2008).
35. Gabriel G., Nordmann A., Stein D. A., Iversen P. L., Klenk H. D.: Journal of General Virology, 89, 939 (2008).

Článek je volně šiřitelný pod licencí Creative Commons (BY-NC-ND). Musí však být uveden autor a dokument nelze měnit a používat pro komerční účely.