

## Роль рецептора DAF в репродукции энтеровирусов

Ф. А. Фадеев, А. Г. Сергеев, А. В. Новоселов

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии Уральской государственной медицинской академии, г. Екатеринбург

Мембранный гликопротеин DAF (CD55), относится к семейству белков-регуляторов, защищающих клетки от комплементзависимого лизиса: он катализирует диссоциацию C3-конвертазы, блокируя этим каскад реакций классического пути активации комплемента. Молекула белка состоит из четырех доменов, каждый размером около 60 аминокислотных остатков, зафиксированных на клеточной мембране с помощью гликозилфосфатидинозитольной (GPI) связки. DAF экспрессируется на поверхности подавляющего большинства ядросодержащих клеток, а также на эритроцитах и тромбоцитах [8].

Присутствие почти на всех клетках организма человека делает DAF удобной мишенью для вирусов, использующих его в качестве рецептора для адсорбции на клеточной мембране и последующего проникновения в цитозоль.

Сродством к DAF обладают многие представители рода *Enterovirus*. Способность взаимодействовать с DAF (DAF<sup>+</sup> признак) выявлена у некоторых вирусов Коксаки А (CVA), Коксаки В (CVB), у большинства вирусов ЕСНО и у энтеровируса 70 (EV70), но, в то же время, никогда не обнаруживалась у полиовирусов [7, 8, 9, 11]. Массовое распространение этого рецептора в организме, вероятно, является одним из факторов, обуславливающих способность энтеровирусов к репродукции во многих внутренних органах и тканях и, соответственно, широкий диапазон вызываемых ими заболеваний.

Целью данного обзора является анализ современных данных по вопросу о роли рецептора DAF при репродукции энтеровирусов как *in vitro*, так и *in vivo*.

### Коксаки А

Сродство к DAF выявлено лишь у отдельных представителей этой группы — вирусов Коксаки А20, А21, А24, относящихся к кластеру С. Прототипный штамм *Kuykendall* и выделенные на клетках HeLa клинические изоляты CVA21 обладали сродством одновременно к двум рецепторам: DAF и ICAM-1 (молекула межклеточной адгезии, CD54). При этом вирус связывался с дистальными доменами рецепто-

ров. Эксперименты показали, что присутствия на мембране клетки только молекул ICAM-1 достаточно для адсорбции и проникновения вируса в цитозоль. В то же время, CVA21 может лишь адсорбироваться, но не инфицировать клетки, экспрессирующие DAF и лишенные ICAM-1. Взаимодействие вируса с ICAM-1 приводит к его трансформации в А-частицу, тогда как связывание с DAF не оказывает влияния на структуру вириона [11].

Необходимо отметить, что родственные CVA21 вирусы Коксаки А15, А18 и А20 обладали сродством к ICAM-1, но при этом не взаимодействовали с DAF.

### Коксаки В

Основным рецептором для вирусов Коксаки В является белок CAR (*Coxsackie-adenovirus receptor*). Однако из прототипного штамма Коксаки В3 Nancy был выделен вирус CVB3-NA, обладавший сродством одновременно к DAF и CAR. При этом, как и в случае вируса Коксаки А21, присутствие рецептора DAF не требовалось для проникновения вируса в клетку, для этого было достаточно наличия на ее мембране CAR [9].

*Goodfellow et al.*, [4] удалось адаптировать вирус Коксаки В3 к клеткам RD, не экспрессирующим рецептор CAR. Полученный штамм (CVB3-RD) обладал сродством к рецептору DAF, но при этом утрачивал способность взаимодействовать с CAR, что указывало на изменение его рецепторной специфичности. В то же время, взаимодействие вириона с рецептором DAF являлось недостаточным условием для трансформации в А-частицу и для проникновения в клетку. Вероятно, для этого также был необходим корецептор.

### Вирусы ЕСНО

Способность взаимодействовать с DAF была выявлена у вирусов ЕСНО 3, 6, 7, 11, 12, 13, 21, 24, 29, 30, 33 [8]. Присутствие рецептора на мембране являлось обязательным условием для адсорбции и, соответственно, инфицирования клетки этими вирусами. В то же время, взаимодействие этих вирусов с DAF

не приводило к трансформации нативных 160S-частиц в 135S-форму: для этого необходимо участие корецепторов. В настоящее время идентифицированы два таких корецептора: CD59 и  $\beta_2$ -микроглобулин. Связывание корецепторов антителами не оказывало существенного влияния на адсорбцию, однако подавляло репродукцию DAF<sup>-</sup> вирусов ECHO [2].

Необходимо отметить, что у некоторых из перечисленных выше вирусов ECHO известны неаффинные к DAF мутантные формы с измененной рецепторной специфичностью, использующие альтернативный механизм проникновения в клетку без участия данного рецептора. В популяции прототипного штамма Gregory вируса ECHO11 *Sergeev et al.* [10] был обнаружены мутантные DAF- частицы. При адаптации DAF<sup>+</sup> клон к клеткам JL-41 эти частицы накапливались в вирусной популяции, постепенно вытесняя из нее исходный DAF<sup>+</sup> вирус [1]. Некоторые штаммы вируса ECHO6, выделенные из клинических изолятов, не взаимодействовали с DAF (в отличие от прототипного D'Amor) и использовали в качестве рецептора гепарансульфат [3].

### Энтеровирус 70

По данным *Karnauchow et al.*, рецептором EV70 на клетках HeLa является белок DAF, причем, связывание вириона происходит с его дистальным доменом [7]. Однако более поздние исследования позволили расширить представление о рецепторной специфичности EV70. Было показано, что на других клеточных культурах этот вирус связывается с олигосахаридной последовательностью O-гликана, которая может входить в состав нескольких различных молекул, содержащих комплекс сиаловая кислота-2,3-галактоза (SA $\alpha$ 2,3Gal). При этом рецепторами EV70 на клетках могут являться как гликопротеины, так и сиалосодержащие молекулы небелковой природы [5].

Анализ современных данных о рецепторной специфичности энтеровирусов позволяет сделать определенные выводы о том, какое значение для них может иметь использование DAF в качестве клеточного рецептора. Этот признак является конвергентным, независимо приобретенным различными серотипами энтеровирусов, не состоящих в близком филогенетическом родстве. DAF<sup>+</sup> вирусам ECHO данный рецептор необходим для адсорбции на клеточной мембране [8], в то время как для вирусов Коксаки A21 и B3 (штамм CVB3-NA) присутствие DAF не является обязательным условием для инфицирования клетки [9, 11]. Однако во всех случаях вирус после связывания с DAF сохраняет свою инфекционность: для трансформации вириона в А-частицу и последую-

щего проникновения вирусной РНК в клетку требуется взаимодействие с корецепторами.

Необходимость участия корецепторов в процессе интернализации связанной с DAF вирусной частицы обусловлена особенностями морфологии энтеровирусов. Каждая из вершин их капсида окружена кольцеобразной впадиной — каньоном. На дне каньона располагается длинное и узкое углубление, «карман» (*rocket*), заполненное жирной кислотой, получившей название «фактор кармана» (*rocket factor*). «Фактор кармана» обеспечивает стабильность вирусной частицы, его удаление из углубления приводит к самопроизвольной трансформации вириона в А-частицу. Таким образом, используемый вирусом клеточный рецептор играет роль катализатора, извлекающего жирную кислоту из кармана и этим инициирующего весь дальнейший процесс интернализации вирусной частицы [6].

DAF присоединяется к вирусному капсиду за пределами каньона. Точки соприкосновения рецептора и вириона могут различаться, но они всегда расположены южнее кольцевого углубления. Функцию связывания с каньоном и высвобождения жирной кислоты выполняет корецептор, в частности, ICAM-1 для Коксаки А или CAR для Коксаки В. По мнению исследователей, DAF для вирусов Коксаки A21 и B3 является вспомогательным рецептором, который фиксирует вирусную частицу на поверхности клетки и этим облегчает ее взаимодействие с корецептором [6]. Эта гипотеза косвенно подтверждается близким пространственным расположением рецептора DAF и корецепторов ICAM-1 и CAR на клеточной мембране. Для DAF<sup>+</sup> вирусов ECHO адсорбция на клетке без участия этого рецептора оказывается невозможной, вероятно, вследствие низкой прочности связи с корецепторами.

В настоящее время не выявлены энтеровирусы, для которых использование рецептора DAF являлось бы абсолютно необходимым условием для существования вида: вирусы Коксаки А и В могут адсорбироваться на клетке без участия этого рецептора, а у вирусов ECHO описаны мутанты, способные реализовывать DAF-независимый механизм интернализации. В то же время, способность взаимодействовать с DAF была эволюционно приобретена многими (хотя и далеко не всеми) энтеровирусами независимо друг от друга и, следовательно, она должна иметь определенное значение при репродукции вирусов *in vivo*. Однако в доступной литературе этот вопрос практически не рассматривается.

Вместе с тем известно, что патогенез энтеровирусной инфекции включает в себя несколько стадий, начиная с репродукции вируса в эпи-

телиии носоглотки и кишечника и заканчивая поражением оболочек мозга и клеток ЦНС. При этом инфицирование нового органа или ткани может сопровождаться селекцией вируса по признаку рецепторной специфичности, в том числе и по способности к взаимодействию с DAF. Особый интерес представляет способность энтеровирусов к гематогенной диссеминации. Рецептор DAF в большом количестве присутствует на мембране эритроцитов, поэтому попавшие в кровь DAF<sup>-</sup> вирусные частицы адсорбируются на их поверхности. Связанный на мембране эритроцита вирион сохраняет инфекционность, однако высокая прочность связи вирус-рецептор делает его «освобождение» затруднительным. Таким образом, эритроциты могут играть двойную роль: либо они представляют собой барьер для DAF<sup>-</sup> частиц, преодолеть который способны лишь неаффинные к DAF мутанты, либо, напротив, являются своеобразным транспортным средством, разносящим вирус из входных ворот по организму.

Таким образом, в рассматриваемой проблеме взаимодействия энтеровирусов с рецептором DAF особую актуальность приобретают следующие вопросы:

- какую роль играет рецептор DAF в процессе интернализации энтеровирусов, имеет ли аффинный к этому рецептору вирус какое-либо репродуктивное преимущество по сравнению с неаффинным;
- по какой причине филогенетически неродственные серотипы энтеровирусов приобрели способность связываться с этим рецептором;
- как изменяется рецепторная специфичность энтеровирусной популяции на разных

стадиях инфекционного процесса и, в частности после проникновения вируса в кровь.

Решение этих вопросов откроет перспективу для разработки нового поколения противовирусных препаратов, способных специфически связывать вирусный антирецептор и этим подавлять его взаимодействие с клеточным рецептором. Блокирование антирецепторов вирусных частиц, способных преодолеть гематолимфатический барьер, позволит предотвратить развитие генерализованных форм энтеровирусной инфекции. Такие препараты должны обладать избирательным действием и давать меньше побочных эффектов по сравнению с современными противовирусными средствами, ингибирующими репродукцию вируса уже после его проникновения в клетку.

## Выводы

1. Белок DAF является клеточным рецептором ряда филогенетически неродственных представителей рода *Enterovirus*: некоторых вирусов Коксаки А и В и ECHO, а также энтеровируса 70.
2. Рецептор DAF принимает участие лишь на стадии адсорбции вирусной частицы, для инициализации процесса проникновения вируса в клетку необходимо взаимодействие с корешепторами.
3. В настоящее время не выявлены энтеровирусы, для которых использование рецептора DAF являлось бы абсолютно необходимым условием для существования вида: вирусы Коксаки А и В могут адсорбироваться на клетке без участия этого рецептора, а у вирусов ECHO описаны мутанты, способные реализовывать DAF-независимый механизм интернализации.

## Литература

1. Фадеев Ф. А. Квазивидовая структура популяции энтеровирусов по признаку специфичности антирецептора и ее динамика на различных клеточных культурах / Ф. А. Фадеев, А. В. Новоселов, А. Г. Сергеев // Вестник УГМА – Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2003. – №11. – С.68–73.
2. Goodfellow I. G. Echovirus infection of rhabdomyosarcoma cells is inhibited by antiserum to the complement control protein CD59 / I. G. Goodfellow, R. M. Powell, T. Ward, O. B. Spiller, J. W. Almond, D. J. Evans // J. Gen. Virol. – 2000. – V.81. – P.1393–1401.
3. Goodfellow I. G. Echoviruses bind heparan sulfate at the cell surface / I. G. Goodfellow, A. B. Sioofy, R. M. Powell, D. J. Evans // J. Virol. – 2001. – V.75, №10. – P.4918–4921.
4. Goodfellow I. G. Inhibition of coxsackie B infection by soluble forms of its receptors: binding affinities, altered particle formation, and competition with cellular receptors / I. G. Goodfellow, D. J. Evans, A. M. Blom, D. Kerrigan, J. S. Miners, B. P. Morgan, O. B. Spiller // J. Virol. – 2005. – V.79, №18. – P.12016–12024.
5. Haddad A. Binding to decay-accelerating factor is not required for infection of human leukocyte cell lines by enterovirus 70 / A. Haddad, M. R. Nokbeh, D. A. Alexander, S. J. Dawe, C. Grise, N. Gulzar, K. Dimock // J. Virol. – 2004. – V.78, №6. – P.2674–2681.
6. He Y. Structure of decay-accelerating factor bound to echovirus 7: a virus-receptor complex / Y. He, F. Lin, P. R. Chipman, C. M. Bator, T. S. Baker, M. Shoham, R. J. Kuhn, M. E. Medof, M. G. Rossmann // PNAS. – 2002. – V.99, №16. – P. 10325–10329.
7. Karnachow T. M. The HeLa cell receptor for enterovirus 70 is decay-accelerating factor (CD55) / T. M. Karnachow, D. L. Tolson, B. A. Harrison, E. Altman, D. M. Lublin, K. Dimock // J. Virol. – 1996. – V.70, №8. – P.5143–5152.
8. Powell R. M. Characterization of echoviruses that bind decay accelerating factor (CD55): evidence that some hemagglutinating strains use more than one cellular receptor / R. M. Powell, V. Schmitt, T. Ward, I. Goodfellow, D. J. Evans, J. W. Almond // J. Gen. Virol. – 1998. – V.79. – P.1707–1713.
9. Selinka H.-C. Comparative analysis of two Coxsackievirus B3 strains: putative influence of virus-receptor interactions on pathogenesis / H.-C. Selinka, A. Wolde, A. Pasch, K. Klingel, J.-H. Koupper, A. M. Lindberg, R. Kandolf // J. Med. Virol. – 2002. – V.67. – P.224–233.
10. Sergeev A. G. Genetic analysis of echovirus 11 variability in adsorption to human erythrocytes / A. G. Sergeev, A. V. Novoselov, A. V. Bubenshnikov, E. S. Voroshilina // Arch. Virol. – 1994. – V.134, №2. – P.129–139.
11. Shafren D. R. Cytoplasmic interactions between decay-accelerating factor and intercellular adhesion molecule-1 are not required for coxsackievirus A21 cell infection / D. R. Shafren, D. J. Dorahy, R. F. Thorne, R. D. // J. Gen. Virol. – 2000. – V.81. – P.889–894.