

SARS-CoV-2病毒逃避固有免疫应答的机制研究进展

唐庭轩, 郭凯文*

(武汉科技大学医学院, 武汉 430065)

摘要: 新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染引发的新冠肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)疫情仍在肆虐, 为全球的公共健康及社会经济带来巨大威胁。免疫系统在机体抵御病毒感染中发挥着关键作用。其中, 固有免疫在抗击新冠病毒侵入中至关重要。但目前学界对SARS-CoV-2诱发的机体固有免疫反应的理解仍有限。本文简要回顾了SARS-CoV-2感染后宿主固有免疫反应的最新研究成果, 分析了SARS-CoV-2如何诱导树突状细胞、巨噬细胞及NK的功能障碍, 从而破坏机体固有免疫反应, 并探讨了SARS-CoV-2逃避固有免疫监视的机制。分析表明, SARS-CoV-2病毒通过多种机制来逃避固有免疫应答识别, 且固有免疫系统是机体对抗SARS-CoV-2病毒侵入的第一道防线。虽然目前还没有药物治疗人类的新冠病毒感染, 但不断加深对感染新冠后宿主固有免疫反应机制的理解, 对于防治这种快速传播传染病至关重要。

关键词: 新型冠状病毒; 新冠肺炎; 固有免疫; 免疫逃逸

Research progress in the potential strategies of SARS-CoV-2 evading innate immune surveillance

TANG Tingxuan, GUO Kaiwen*

(Medical College, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China)

Abstract: The outbreak of coronavirus disease 2019 (COVID-19), triggered by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has affected millions of people worldwide, and then poses an enormous threat to global public health and economies. The immune system clearly plays the key role in the host defense against the viruses infectious. Innate immune response is essential for immunity to SARS-CoV-2 insult. To date, our understanding of the specific innate immune response to SARS-CoV-2 is extremely limited. This review briefly summarizes recent studies on the host innate immune response upon infection of SARS-CoV-2, such as SARS-CoV-2 infection induced impaired function in macrophages, dendritic cell and NK cells to subvert innate immune responses. It also discusses the potential strategies of SARS-CoV-2 evading innate immune surveillance. These results suggest that innate immune response serves as the first line of antiviral defense to SARS-CoV-2 insult and SARS-CoV-2 have evolved several strategies to escape such innate immune recognition. Currently, there are no approved drugs to cure human COVID-19, but recent advances in our understanding of the underlying mechanisms of the host innate immune response upon infection by SARS-CoV-2 are crucial to development of approaches for prevention and treatment of the epidemic.

Key Words: SARS-CoV-2; COVID-19; innate immunity; immune evasion

收稿日期: 2021-06-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671092); 武汉科技大学大学生创新创业训练计划项目(277)

第一作者: E-mail: 1071798271@qq.com

*通信作者: E-mail: 516899347@qq.com

新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染引发的新冠肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)疫情仍在全球肆虐, 导致了前所未有的公共健康危机, 世界卫生组织(WHO)于2020年3月11日确认其为世界性大流行^[1]。由于缺乏对COVID-19感染的几个重要方面(从病原体生物学到宿主反应和治疗选择)的全面了解, 虽然已有多款疫苗上市, 控制其传播及流行的努力仍困难重重。截至2020年12月31日, COVID-19已在全球感染超过8千万人口, 造成180多万人死亡。目前, 在许多国家和地区不仅每日仍有大量的新发病例, 且出现了更具传染性、侵袭性的新病毒变异株。

通常, 机体固有免疫系统在宿主防御病毒感染方面发挥着关键作用, 能在机体受到病毒侵入时迅速启动免疫应答, 以控制病原体在体内的传播。然而, 在一些易感个体中, SARS-CoV-2病毒能够逃避机体免疫防御, 在宿主体内大量增殖, 引发炎症病理损害, 特别是在肺部导致程度不同的肺炎, 甚至危及生命^[2]。因此, 加强对SARS-CoV-2病毒诱发的免疫应答的理解, 特别是其逃避机体固有免疫监视机制的认识, 对预防和治疗这种危害极大的传染病至关重要^[3]。故此, 本文初步总结了SARS-CoV-2感染后固有免疫应答的变化, 并简要介绍了SARS-CoV-2逃避固有免疫监视的潜在机制研究进展。

1 SARS-CoV-2病毒的特征及感染后的固有免疫应答

与其他冠状病毒一样, SARS-CoV-2具有典型的包膜结构, 其基因组包括5个主要的开放阅读框, 编码4种结构蛋白, 即核衣壳、膜蛋白、包膜和棘突蛋白以及一个非结构复制酶^[4,5]。SARS-CoV-2通过棘突蛋白识别和结合靶细胞表面的特定受体——血管紧张素转换酶2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)侵入细胞^[6]。在肺中, ACE2除在2型肺细胞表面大量表达外, 在内皮细胞和肺泡巨噬细胞及树突状细胞表面也有ACE2的表达。它们均是SARS-CoV-2病毒的靶细胞^[7]。这能部分解释为什么在SARS-CoV-2感染的初期, 病毒主要引起肺损伤及通过呼吸道飞沫传播。呼吸道固有免

疫细胞不仅参与了病毒引发的免疫应答, 且随着感染细胞迁移到体内其他组织, 导致病毒向远处器官和组织的播散^[8]。

通常, 由各种免疫细胞及免疫蛋白组成的免疫屏障覆盖在整个肺表面构成了一个对抗病原体入侵的主动防御网络。固有免疫系统是病毒的最初识别和后续炎症反应的第一道防线, 其细胞组成主要有各种专职抗原提呈细胞, 如树突状细胞(dendritic cell, DCs)、巨噬细胞; 吞噬细胞, 如中性粒细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)等^[3]。越来越多的证据表明, 固有免疫细胞功能失调可能导致COVID-19标志性临床综合征, 如急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)、细胞因子释放综合征和淋巴细胞减少症^[2]。目前, 学术界对SARS-CoV-2引发的固有免疫应答了解仍有限。初步研究表明, SARS-CoV-2侵入细胞后, 病毒大量复制并释放两个胞内复合物, 即病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)与损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs), 而后引发细胞焦亡^[9]。焦亡的细胞破坏后会导致病毒、PAMPs、DAMPs和各种细胞碎片大量释放。固有免疫细胞主要通过模式识别受体(pattern recognition receptor, PRRs)结合PAMPs或DAMPs, 启动了机体的固有免疫应答。例如: 胞外Toll样受体2(toll like receptor 2, TLR2)、TLR4、TLR7、TLR8、TLR9识别来自病毒成分的不同PAMPs; 胞内维甲酸诱导基因1和黑色素瘤分化相关蛋白5可识别病毒单链RNA或双链RNA^[10]。活化的固有免疫细胞产生大量具有抗病毒功能的干扰素(interferon, IFN), 而后触发下游信号分泌大量细胞因子^[11]。其中, I/III型IFNs被认为是最重要的抗病毒因子, 其他细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素1(interleukin 1, IL-1)、IL-6、IL-18也被大量释放。它们共同在靶细胞中诱导抗病毒免疫, 并引发或增强适应性免疫应答^[12]。

2 SARS-CoV-2感染后巨噬细胞及树突状细胞的变化

对有症状的COVID-19患者的外周血单个核细

胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)进行流式细胞术分析,显示在其PBMC中有高比例的产生粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)的活化CD14⁺ HLA-DR⁺炎症单核细胞(inflammatory monocytes, IMs)。单细胞测序结果也显示此类患者外周血CD14⁺ IL-1 β ⁺单核细胞扩增^[13]。这些免疫细胞的改变与此类患者的临床症状进展高度相关。重症COVID-19患者的肺组织转录组学研究提示,局部肺组织中常住修复性肺泡巨噬细胞减少,而IMs和FicoLin-1⁺单核来源的巨噬细胞显著增殖。上述研究还观察到IFNs信号和单核细胞募集信号上调,这些可能导致肺泡开放度迅速下降,并促进ARDS发生^[13]。来自新冠肺炎患者的队列研究提示,COVID-19患者淋巴结和脾脏中CD169⁺巨噬细胞表达ACE2和SARS-CoV-2核衣壳蛋白,说明巨噬细胞易受SARS-CoV-2感染^[3]。作为对病毒感染的反应,巨噬细胞分泌IL-1、IL-12、IFN- α 和IFN- γ 等促炎细胞因子,导致炎症小体激活,诱导致病性Th1和Th17细胞反应,招募效应免疫细胞,促进下游的细胞因子瀑布样释放,进一步加重疾病。

早期的研究提示,患者支气管肺泡灌洗液中成熟DCs相对增加,表明DCs参与了SARS-CoV-2感染的肺部反应^[14]。通过分析患者血液和肺部DC亚群的分布及活性,发现循环中的CD1c⁺ DC、CD141⁺ DC、髓样树突状细胞(myeloid dendritic cell, MDC)、浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC)均减少,其活性受损^[10],CD1c⁺ DC在肺中积累,但CD141⁺ DC和pDC没有在肺内积聚,表明患者肺部和血液中DCs亚群普遍减少,并导致SARS-CoV-2感染早期干扰素产生减少和天然免疫功能的下降^[10]。

另一项研究证实,SARS-CoV-2可以进入DCs和巨噬细胞内,但与SARS冠状病毒1(severe acute respiratory syndrome coronavirus 1, SARS-CoV-1)的情况一样,没有发生病毒复制^[13]。进入胞内过程可能是通过树突状细胞表面特异的胞间黏附分子3捕获非整合素(DC-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin, DC-SIGN)和弗林蛋白酶进行的,而不是通过ACE2和跨膜丝氨酸蛋

白酶2^[13]。总之,目前仍没有关于COVID-19感染期间DCs处理和提呈抗原的数据。但至少在COVID-19中,受SARS-CoV-2感染的DCs还不成熟,不能直接进行抗原递呈来激活T细胞。目前尚不清楚DCs是SARS-CoV-2感染的效应者,还是感染的靶目标,或者两者兼而有之,DCs在COVID-19病理中的具体作用还需进一步深入研究。

3 SARS-CoV-2感染后NK细胞的变化

NK细胞是固有免疫系统的另一个重要成员。研究证实,COVID-19患者外周血中NK细胞数量减少,且与疾病的严重程度密切相关^[3]。大多数肺内NK细胞是非常驻性的,多由外周募集到肺组织中,趋化因子受体3(C-X-C motif chemokine receptor 3, CXCR3)已被证明在流感感染时介导NK细胞的肺内浸润。在COVID-19患者肺组织中,3种干扰素诱导型CXCR3配体表达增加,且产生CXCR3配体的单核细胞在COVID-19患者的肺组织也出现扩增。提示CXCR3信号通路可能参与了新冠肺炎患者NK细胞从外周血到肺的迁移与募集^[3]。

SARS-CoV-2感染时产生的IgG1和IgG3抗体可通过抗原表位识别区与感染细胞表面表达的抗原结合或与细胞外病毒粒子结合成免疫复合物,从而诱导CD56^{dim}CD16⁺ NK细胞的激活^[3]。活化的NK细胞产生大量细胞因子,并通过抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)机制裂解病毒感染细胞。

有研究报告了NK介导的ADCC对自然分离的抗SARS-CoV-2棘突蛋白抗体IgG的应答能力,该抗体在转染中国仓鼠卵巢细胞时与SARSCoV-2的棘突蛋白发生交叉反应,提示触发NK细胞活化不仅有助于感染的消退,也促进了ARDS过程中的细胞因子风暴^[3]。

4 SARS-CoV-2病毒逃避固有免疫监视的机制

由于固有免疫应答是抵御病毒感染的首要屏障,既往对冠状病毒如SARS-CoV-1和中东呼吸综合征冠状病毒(middle east respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoVs)的研究提示,冠状病毒

可通过多种机制来逃避固有免疫监视, 如拮抗PRRs感知、干扰IFNs信号转导、影响细胞因子分泌等^[14]。SARS-CoV-2也同样进化出上述几种机制来逃避固有免疫监视, 如在感染的巨噬细胞或树突细胞中下调MHC-II类分子, 通过逃逸PRRs感知而导致抗原呈递受损和T细胞活化减弱; 抑制I型IFN的结合和信号传导; 病毒编码的蛋白质可以与PRRs下游的转录信号结合, 抑制抗病毒的细胞因子级联分泌^[14]。

SARS-CoV-2逃避固有免疫监视始于拮抗PRRs识别。SARS-CoV-2病毒的单链RNA在复制过程中形成双链中间体, 在胞内被TLR3或在内吞体被RNA解旋酶家族蛋白诱导基因- I、抗黑色素瘤分化相关基因5和双链RNA激活蛋白激酶PKR识别^[15]。单链RNA也可在胞外被TLR7或TLR8识别。COVID-19可通过避免被识别或拮抗PRRs来避免PRR激活。只有在PRR激活后, RNA解旋酶家族和TLRs可诱导信号级联反应, 导致转录因子如核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)和IFN调节因子家族(interferon regulatory factors, IRF)的磷酸化, 最终导致IFNs和促炎细胞因子转录^[15]。虽然还没有实验研究描述SARS-CoV-2病毒蛋白的确切功能, 但蛋白质组学研究已经证明了该病毒蛋白和PRRs信号级联之间的相互作用^[16]。SARS-CoV-2 ORF9b通过与Tom70的结合间接地与信号转接子MAVs相互作用, 抑制MAVs的信号。此外, SARS-CoV-2 NSP13与信号中间产物TBK1相互作用, NSP15与TBK1和IRF3的激活物RNF41相关。NF- κ B也被SARS-CoV-2蛋白抑制, 导致对宿主转录和翻译的全面抑制, 从而限制机体的非特异性抗病毒防御^[16]。既往的研究已证实, SARS-CoV-1能在体内及体外显著抑制IFN- γ 的释放, SARS-CoV-2也存在类似的作用机制^[17]。在感染的细胞系、原代支气管细胞和雪貂模型中均发现I/III型IFNs分泌被显著抑制。与轻度或中度患者相比, 重度新冠肺炎患者IFN- γ 生成明显受损。IFNs反应的失调在新冠肺炎致病性中起关键作用。另一方面, 时机也很重要, IFNs在疾病早期具有保护作用, 但在疾病的后期将转为致病性的。IFNs可诱导巨噬细胞ACE2表达上调, 且SARS-CoV-2感染可导致巨噬细胞及树突状细胞的凋亡, 且该效应是IFNs介导

的, 能被IFNs单抗阻断^[13]。SARS-CoV-2阻断IFNs信号的同时可能会诱发其他炎症途径的激活, 例如, SARS-CoV-2 NSP9和NSP10可能通过抑制内源性NF- κ B抑制因子NKRFB1诱导IL-6和IL-8分泌, 促进病理性炎症反应^[3]。

在COVID-19患者中, 多种途径参与了NK细胞的功能调节失调, 导致感染SARS-CoV-2的细胞逃避NK的杀伤。COVID-19患者外周血NK细胞内的CD107a、Ksp37、颗粒酶B和颗粒溶素的表达降低, 其细胞毒作用减弱, 同时趋化因子、IFN- γ 和TNF- α 的产生也减少。肺内NK细胞并不表达SARS-CoV-2的结合受体ACE2, 因此, 不太可能直接感染SARS-CoV-2。人肺内的大多数NK细胞为成熟的CD16⁺KIR⁺CD56^{dim}表型, 能诱导缺失HLA-I类分子的细胞裂解或通过Fc受体信号途径诱导细胞毒性。KIR与CD16在NK细胞发育过程中是必需的, 对NK细胞的细胞溶解功能至关重要。在SARS-CoV-2患者外周血NK细胞上表达的CD16与KIR显著降低^[18]。

研究还提示, 编码免疫检测点蛋白LAG3、Tim-3、NKG2A的基因在COVID-19患者的外周血NK细胞中上调, 且与NK细胞的低活性相关^[15]。NKG2A是NK细胞上重要的抑制受体, 其通过结合非经典HLA分子抑制了NK的细胞因子分泌和细胞毒作用。COVID-19患者外周血中检出较高的IL-6和TNF- α 浓度, 且与NK细胞数量减少显著相关^[3]。IL-6与其受体结合可在体外导致NK细胞的穿孔素和颗粒酶B的产生减少, 造成其细胞毒作用受损。来自单核细胞的TNF- α 可与NK细胞上的受体结合, 促进NK细胞成熟与分化, 同时下调激活受体NKG2A^[3]。上述研究表明, SARS-CoV-2可能在感染的早期通过多种途径破坏了NK细胞对感染细胞的识别和杀伤作用, 并对后续有效的获得性免疫的产生带来不利。未来还需要进一步研究NK受体的配体在SARS-CoV-2感染细胞上的表达, 以加深对COVID-19患者NK细胞活化障碍的潜在机制的认识。

5 总结

综上所述, 固有免疫系统是机体对抗SARS-CoV-2病毒侵入的重要防线。SARS-CoV-2通过棘

突蛋白识别和结合靶细胞表面的特定受体ACE2侵入细胞后,巨噬细胞分泌促炎细胞因子,其水平与疾病严重程度密切相关。NK细胞活化不仅有助于感染的消退,也促进了ARDS过程中的细胞因子风暴。初步研究表明,SARS-CoV-2病毒可通过拮抗PRRs感知、干扰IFNs信号转导、影响细胞因子分泌等多种机制和途径来逃避和/或对抗固有免疫应答。了解COVID-19患者固有免疫功能障碍的确切驱动因素对于指导适当免疫调节治疗的应用至关重要。目前,在疫苗开发的同时,多种旨在限制SARS-CoV-2免疫逃逸的免疫干预疗法也处于不同的发展阶段,但我们距离全面认知冠状病毒和固有免疫系统之间的相互作用还有很长的路,在做好公共防御的同时,仍需持续加强相关研究。

参考文献

- [1] Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med*, 2020, 26(4): 450-452
- [2] Guihot A, Litvinova E, Autran B, et al. Cell-mediated immune responses to COVID-19 infection. *Front Immunol*, 2020, 11: 1662
- [3] Vabret N, Britton GJ, Gruber C, et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity*, 2020, 52(6): 910-941
- [4] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273
- [5] Kim D, Lee JY, Yang JS, et al. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*, 2020, 181(4): 914-921.e10
- [6] Ou X, Liu Y, Lei X, et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1620-1632
- [7] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 2020, 181(2): 271-280.e8
- [8] Shang J, Wan Y, Luo C, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(21): 11727-11734
- [9] Zhao C, Zhao W. Nlrp3 inflammasome-a key player in antiviral responses. *Front Immunol*, 2020, 11: 211
- [10] Campana P, Parisi V, Leosco D, et al. Dendritic cells and SARS-CoV-2 infection: still an unclarified connection. *Cells*, 2020, 9(9): 2046-2069
- [11] Schijns V, Lavelle EC. Prevention and treatment of COVID-19 disease by controlled modulation of innate immunity. *Eur J Immunol*, 2020, 50(7): 932-938
- [12] Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Domínguez-Andrés J, et al. Trained immunity: a tool for reducing susceptibility to and the severity of SARS-CoV-2 infection. *Cell*, 2020, 181(5): 969-977
- [13] Zheng J, Wang Y, Li K, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-induced immune activation and death of monocyte-derived human macrophages and dendritic cells. *J Infect Dis*, 2021, 223(5): 785-795
- [14] Bouayad A. Innate immune evasion by SARS-CoV-2: comparison with SARS-CoV. *Rev Med Virol*, 2020, 30(6): 1-9
- [15] Taefehshokr N, Taefehshokr S, Hemmat N, et al. Covid-19: perspectives on innate immune evasion. *Front Immunol*, 2020, 11: 580641
- [16] Amor S, Fernández Blanco L, Baker D. Innate immunity during SARS-CoV-2: evasion strategies and activation trigger hypoxia and vascular damage. *Clin Exp Immunol*, 2020, 202(2): 193-209
- [17] Xiong Y, Liu Y, Cao L, et al. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 761-770
- [18] Masselli E, Vaccarezza M, Carubbi C, et al. NK cells: a double edge sword against SARS-CoV-2. *Adv Biol Regul*, 2020, 77: 100737