



专论与综述

冠状病毒感染调控细胞凋亡机制研究进展

谢春芳^{1,2} 于瑞嵩^{1,2} 董世娟^{1,2} 司伏生^{1,2} 陈冰清^{1,2} 王剑^{1,2} 马进雯^{1,2} 李震^{*1,2}

1 上海市农业科学院畜牧兽医研究所 上海 201106

2 上海市农业遗传育种重点实验室动物遗传工程研究室 上海 201106

摘要: 冠状病毒是常见的感染人类和动物并造成健康危害的主要病原性微生物之一, 冠状病毒感染细胞后, 细胞产生免疫应答, 病毒为了在细胞内转录翻译和装配下一代, 应对细胞免疫应答的同时, 还参与到许多细胞活动中, 当细胞特定受体与病毒蛋白结合后, 细胞即启动凋亡程序。冠状病毒的许多蛋白在细胞凋亡程序中起促进或抑制凋亡的不同作用, 如病毒 S 蛋白与细胞膜死亡受体作用诱导细胞启动外在凋亡途径, 病毒感染细胞后产生的 M、S 蛋白引起细胞内质网应激、Ca²⁺失衡, 诱导细胞启动内在凋亡途径, 而 E 蛋白则抑制细胞凋亡的发生。本文综述了冠状病毒对感染细胞的促凋亡或抑制凋亡作用及其作用机制, 通过了解病毒不同蛋白在各种凋亡途径中的不同作用, 希望为人工干预调控细胞研究提供思路, 为冠状病毒感染防控提供理论支持。

关键词: 冠状病毒, 促凋亡, 抑制凋亡, 内在凋亡途径, 外在凋亡途径

Mechanism of apoptosis regulation induced by coronavirus in infected cells

XIE Chun-Fang^{1,2} YU Rui-Song^{1,2} DONG Shi-Juan^{1,2} SI Fu-Sheng^{1,2}
CHEN Bing-Qing^{1,2} WANG Jian^{1,2} MA Jin-Wen^{1,2} LI Zhen^{*1,2}

1 Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China

2 Laboratory of Animal Genetics Engineering, Shanghai Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding, Shanghai 201106, China

Abstract: Coronaviruses are the common pathogenic microorganisms that infect human and animals and cause health hazards. Cell immune responses are induced to fight against coronavirus infection in infected cells. In order to initiate transcription and translation and to assemble the next generation in infected cells, viruses respond to cellular immune response and participate in many cellular activities. When specific receptors such as death receptors are bound by viral proteins, cells initiate apoptotic processes. Some viral proteins play critical roles in promoting or inhibiting apoptosis in the apoptotic process. For example, S protein induces external apoptotic pathway by binding to death receptor in cell membrane, M and S proteins induce internal apoptotic pathway by causing endoplasmic reticulum stress and Ca²⁺ imbalance. On the other hand, E protein inhibits apoptosis in infected cells. This article

Foundation item: Shanghai Key Project on Agricultural Development (2015-6-1-9)

***Corresponding author:** E-mail: zhenli60@163.com

Received: 12-04-2019; **Accepted:** 10-09-2019; **Published online:** 22-11-2019

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字[2015]第 6-1-9 号)

***通信作者:** E-mail: zhenli60@163.com

收稿日期: 2019-04-12; **接受日期:** 2019-09-10; **网络首发日期:** 2019-11-22

reviews the mechanism of pro-apoptotic or anti-apoptotic effects of coronavirus on infected cells. By understanding the different roles of different viral proteins in extrinsic and intrinsic apoptotic pathways, it is expected to provide ideas for artificial intervention in cell regulation for prevention and control of coronavirus infection.

Keywords: Coronavirus, Proapoptosis, Inhibition of apoptosis, Intrinsic apoptotic pathway, Extrinsic apoptotic pathway

冠状病毒(coronavirus, CoV)可侵害动物范围广泛,包括家畜家禽和宠物如马、牛、猪、狗、猫、鸟类等,主要感染上呼吸道和胃肠道,多发于冬春季节,呼吸道感染引起类似感冒的发热、呼吸道炎症的症状,消化道感染导致呕吐、腹泻、脱水消瘦等症状;严重急性呼吸综合征病毒(severe acute respiratory syndromes, SARS-CoV)和中东呼吸综合征相关冠状病毒(middle east respiratory syndrome-related coronavirus, MERS-CoV)等对人具有高感染率和高死亡率^[1-5]。近年来,猪传染性胃肠炎病毒(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)、猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)、禽传染性支气管炎病毒(infectious bronchitis virus, IBV)等肆虐全球,给各国畜牧业造成重大的经济损失,引起世界各国的高度关注^[6-8]。本文整理归纳了冠状病毒与其感染细胞凋亡影响的文献,阐述了冠状病毒诱导或抑制细胞凋亡的信号途径、作用机制,以期对冠状病毒与宿主细胞之间的相互作用关系有更深层次的理解,为冠状病毒的致病机理、预防控制提供参考依据。

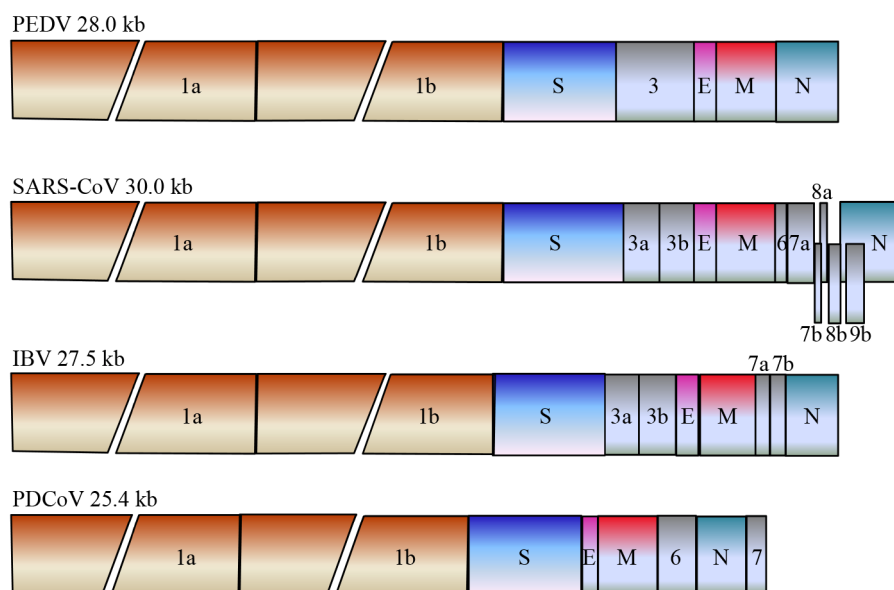
冠状病毒感染人或动物体的病理机制非常复杂,被冠状病毒感染的细胞通过细胞凋亡抑制病原的复制、繁殖和扩散传播,了解冠状病毒诱导的细胞凋亡机制有助于研究病毒与侵染细胞之间的相互作用关系,进一步了解病毒产生的各种蛋白在侵染细胞、诱导细胞凋亡过程中的具体作用及细胞产生的相应的免疫应答或凋亡反应,有利于研究并制定防控冠状病毒侵染的有效措施。

1 冠状病毒分类及特征

冠状病毒(coronavirus, CoV)属尼多病毒目

(nidovirals)冠状病毒科(coronaviridae),主要分为 α 、 β 、 γ 和 δ 属冠状病毒4个属, α 属冠状病毒主要包括人冠状病毒229E(human coronavirus 229E)、人冠状病毒NL63(human coronavirus NL63)、PEDV、TGEV和犬冠状病毒(canine coronavirus, CCoV)等; β 属冠状病毒主要包括SARS-CoV、MERS-CoV等; γ 属冠状病毒以IBV为主; δ 属冠状病毒主要包括鸟类冠状病毒和猪 δ 冠状病毒(porcine deltacoronavirus, PDCoV)^[9-10]。

各种属的冠状病毒具有类似的基因组成(图1)^[11-14],其基因组为单股正义RNA病毒,通常大小为27-31 kb,5'UTR具有帽子结构,3'UTR具有Poly A结构,5'端编码2个大的复合蛋白ORF1a、ORF1b,占据全基因组的2/3,剩余1/3靠近3'端的基因组主要编码结构蛋白。这些结构蛋白包括纤突蛋白(spike, S)、膜蛋白(membrane, M)、核蛋白(nucleocapsid, N)、包膜蛋白(envelop, E);S蛋白是一种糖蛋白,PEDV的S蛋白分为S1和S2两个结构域,S1蛋白的C端结构域(C-terminal domain, CTD)与细胞膜上的氨基肽酶N(aminopeptidase N, APN)相互作用,我们实验室成功表达、纯化的PEDV S1蛋白具有好的抗原免疫原性^[15],我们还运用液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)技术和免疫沉淀技术,筛选出被PEDV侵染的细胞蛋白中翻译起始因子31(eukaryotic initiation factor 31, eIF31)和细胞周期蛋白(cell division cycle 42, CDC42)与PEDV M蛋白相互作用^[16];在冠状病毒结构蛋白基因中分散着数量不等的辅助蛋白基因,如 α 冠状病毒属PEDV只编码一个辅助蛋白ORF3, β 属SARS-CoV则编码8个辅助蛋白:ORF 3a、3b、6、7a、7b、

图 1 四种冠状病毒的基因组图^[11-14]Figure 1 Genome maps of four types of coronavirus^[11-14]

8a、8b 和 9b^[11,17]；另外对 PEDV 的辅助蛋白 ORF3 的研究也取得了显著进展，运用实验室建立的反向遗传操作技术拯救出携带不同 *orf3* 基因和 *orf3* 基因缺失的重组 PEDV，通过免疫组化实验证明 ORF3 蛋白对侵染的 Vero 细胞增殖具有促进作用^[18]。

机体受到病毒感染后，免疫系统会产生一系列的应答反应，以清除入侵病毒，细胞凋亡也是细胞对抗感染的一种策略，大部分的冠状病毒在宿主体内能诱导细胞凋亡，感染 SARS-CoV 的 Vero 细胞 24 h 即可检测到染色体 DNA 断裂片段，SARS-CoV 感染者的 Bcl-2 下调、Bax 上升、Caspase-3 被激活，显示 Caspase 和线粒体凋亡信号途径；TGEV 诱导 Caspase 依赖的外在凋亡途径也诱导 DNA 裂解片段化和线粒体转膜蛋白变化的内在凋亡；MERS-CoV、IBV 激活侵染细胞内在和外在凋亡信号途径，当细胞出现明显病变时，大多数细胞已经核质凝缩或形成凋亡小体，显微镜下可见凋亡细胞胞质凝缩和细胞膜融合、染色质凝集并附在核膜周边，最后核断裂、染色质脱落，形成膜包凋亡小体，被机体清除^[19-24]。

动物冠状病毒的预防研究开展比较多，也取得了很好的进展，如 PEDV、TGEV 以及 IBV 的商品化疫苗已经使用了很多年。但是动物冠状病毒治疗方面无特效方法，对冠状病毒诱导细胞凋亡的研究将有助于防控方法和药物的研究。

2 冠状病毒诱导细胞凋亡途径

引起细胞凋亡的途径主要有外在凋亡途径和内在凋亡途径。外在凋亡途径是通过凋亡刺激物刺激细胞膜上的死亡受体，使其激活，从而激活半胱天冬酶(caspase)级联凋亡信号途径，Caspase 级联信号在 Caspase-8/-10 激活后分为两条路径，一条激活下游执行 Caspase-3/-7 最后切割 DNA 修复酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP)，使 PARP 丧失修复 DNA 的功能，引起细胞凋亡；另一条路径是活化的 Caspase-8/-10 还可以作用 Bcl-2 家族中的促凋亡因子 Bit，被激活的 tBit 通过线粒体凋亡途径诱导细胞凋亡^[25-27]。内在凋亡途径主要分为内质网应激诱导细胞凋亡途径和线粒体诱导细胞凋亡途径两种。内质网途径则是由于内质网受到细胞内稳态失衡、未折叠或错误折叠蛋白等应激而产生未

折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR), 过度的 UPR 则会诱导细胞凋亡, UPR 主要通过 3 种感应蛋白被激活: R 样蛋白激酶内质网激酶 (protein kinase R like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、激活转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6) 和肌醇需要蛋白 1 (inositol-requiring protein-1, IRE1), 这 3 种蛋白中 PERK 最先被激活, 其次为 ATF6, IRE1 最后被激活^[28-30]。线粒体凋亡途径主要由细胞质内的凋亡诱导物激活线粒体促凋亡因子, 破坏线粒体外膜的完整性, 释放细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c)、凋亡诱导因子 (apoptosis-inducing factor, AIF) 等凋亡相关蛋白, 诱导细胞凋亡^[31]。

2.1 冠状病毒通过外在途径诱导感染细胞凋亡

细胞外在凋亡途径是由细胞膜上的死亡受体受凋亡刺激物诱导后被激活启动, Fas/CD95 是细胞膜上主要的死亡受体, 是肿瘤坏死因子受体超家族 (tumor necrosis factor receptor, TNF-R) 中的成员之一, TNF-R 超家族成员包括: Fas/CD95、Fas-相关死亡域蛋白 (fas-associated death domain protein, FADD)、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)、Fas 配体 (FasL)、核因子- κ B 配体受体激活剂 (receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL) 等。Fas/CD95 等死亡受体被刺激物激活后, 与其配体, 即连接蛋白 FADD、FasL 等的死亡结构域 (death domain, DD) 结合, 使 Fas/CD95 聚集为三聚体, 在细胞质内与其配体形成死亡诱导信号复合体 (death-inducing signaling complex, DISC), DISC 激活 Caspase 级联信号途径中的起始 Caspase-8 或 Caspase-10, 引起由 Caspase 级联信号途径诱导的细胞凋亡^[32-33]。

许多冠状病毒的 S 蛋白能诱导激活细胞膜死亡受体 Fas/CD95, 病毒感染细胞后, 如 α 冠状病毒 PEDV 和其它冠状病毒 TGEV、IBV、CCoV、SARS 和 MERS 的 S1 蛋白都能被 Fas/CD95 胞外

域识别^[34], 使 Fas/CD95 聚集为三聚体, 在细胞质内与其配体 FasL 形成 DISC, 招募 Caspase-8 或 -10 原酶转移到细胞表面, 激活 Caspase-8/-10, 触发 Caspase 级联凋亡反应, 即直接激活效应 Caspase-3, 或者激活细胞质线粒体凋亡调节因子 Bcl-2 家族促凋亡因子 Bid, 使其活化为 tBid, 然后激活下游的促凋亡因子 Bax, Bax 作用于线粒体外膜, 破坏线粒体外膜的完整性, 使线粒体外膜渗透化 (mitochondrial outer membrane permeabilisation, MOMP), 使线粒体内的 Cyt c、Apaf-1 释放到细胞质内, 与 Caspase-9 结合成三聚体, 激活 Caspase-9, 级联激活 Caspase-3 或 Caspase-7, 激活后的 Caspase-3/-7 进入细胞核, 降解 DNA 修复酶 PARP, 干扰细胞受损 DNA 的修复功能, 使 DNA 片段化, 形成凋亡小体, PEDV 感染 Vero、Vero-E6 和 Marc-145 等体外细胞凋亡, 表现为细胞表现圆缩、细胞融合、膜空泡化、合胞体形成和表观凋亡, 最终导致细胞死亡^[33,35] (图 2)。

γ 冠状病毒 IBV、CCoV 也能通过细胞膜上的死亡受体, 引起 Caspase 依赖的外在途径凋亡, 表现为染色体浓缩、DNA 裂解片段化、Caspase-3 活化和 DNA 修复酶 PARP 降解^[36-38]。

2.2 冠状病毒通过内在途径诱导感染细胞凋亡

冠状病毒感染细胞后, 病毒在细胞内复制, 产生大量的蛋白, 病毒的结构蛋白 S、M、E 蛋白和一些辅助蛋白如 ORF3 定位于内质网上, 这些病毒蛋白质的折叠和修饰增加了内质网的工作量, 造成细胞内质网未折叠蛋白应答 (unfolded protein response, UPR)。在内质网应激的早期阶段, UPR 使内质网分子伴侣重链结合蛋白 (heavy-chain binding protein, Bip) 与感应蛋白 PERK、ATF6 和 IRE1 分离, 游离的 PERK 和 IRE1 各自聚合为二聚体, 然后自身磷酸化而激活, 激活的 PERK/PKR 具有磷酸化翻译起始因子 2 α (eukaryotic initiator factor 2 α , eIF2 α) 亚基上丝氨酸 51 (Ser51) 的功能, 抑制 eIF2 α 翻译起始循环中

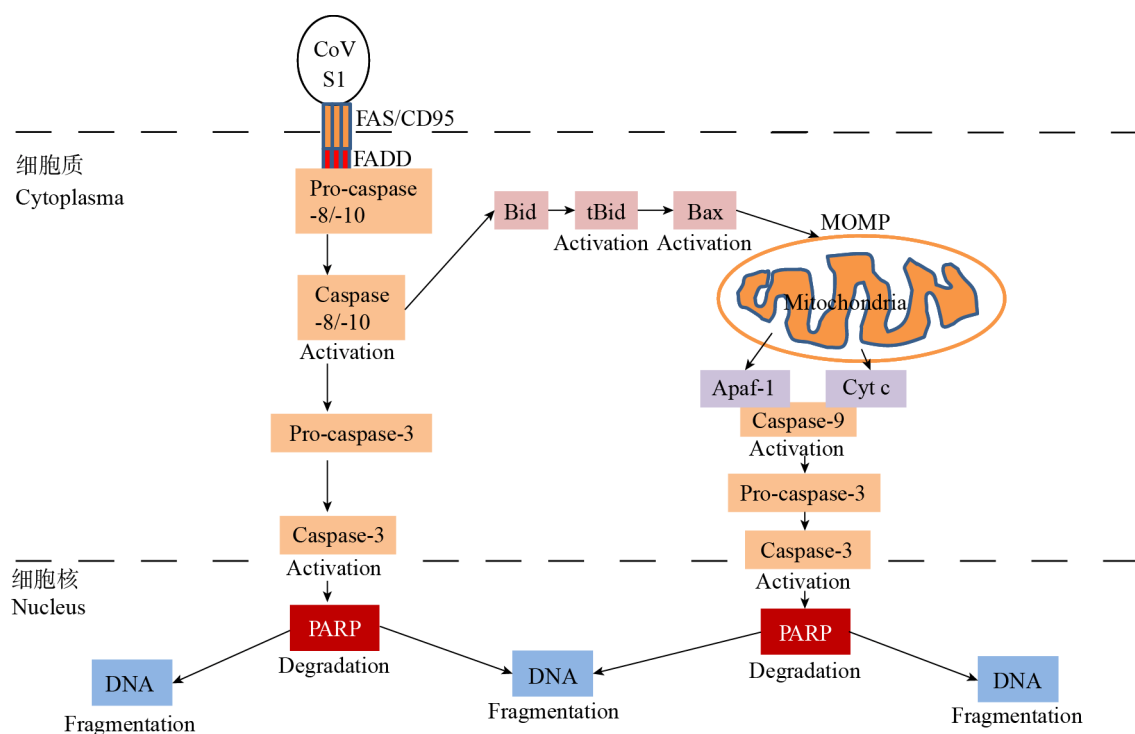


图2 冠状病毒诱导外在细胞凋亡途径

Figure 2 Extrinsic apoptotic pathway induced by coronavirus

GDP/GTP 的交换, 破坏 43S 起始复合物的形成, 从而阻滞 mRNA 的翻译和蛋白合成, 但是磷酸化的 eIF2 α (p-eIF2 α) 可通过增强激活转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) mRNA 的翻译上调, 使 ATF4 的表达持续上调^[28-29,39]; 双链 RNA 蛋白激酶 (protein kinase R, PKR) 被病毒的双链 RNA 激活后也能磷酸化 eIF2 α , 上调 ATF4 的表达, 进入 PKR-eIF2 α -ATF4 途径; 另一个翻译起始因子 eIF3 对蛋白的合成没有影响, 但是与 eIF2 α 等多种翻译起始因子结合, 作为翻译起始因子复合物的支架, eIF3l 具有募集 mRNA 的作用^[40-41]。PEDV M 蛋白可以与细胞的翻译起始因子 eIF3l 相互作用, 暗示着 M 蛋白可能还可以从翻译起始阶段影响细胞的蛋白翻译或者凋亡; ATF4 能诱导 ATF3 基因及生长阻滞和 DNA 损伤诱导基因 153 (growth arrest and DNA damage-inducible gene 153, GADD153) 的表达, GADD153 即 CHOP 蛋白

(C/EBP homology protein), 是一个促细胞凋亡蛋白, CHOP/GADD153 通过抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达和诱导释放内质网中的 Ca^{2+} 到细胞质, 诱导细胞凋亡^[42]。IRE1 发生自磷酸化后可以招募胞浆调节蛋白 (TRAF-2), 间接招募并激活 c-JunN 端激酶 (c-Jun N-terminal kinases, JNK), 抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的活性, 促进细胞凋亡, JNK 通路在感染禽冠状病毒感染性支气管炎病毒 (IBV) 的细胞中被激活, MAPK 激酶 7 (MAPK kinase 7, MKK7) 与 IBV 感染诱导的 JNK 激活有关; 同时, 磷酸化的 IRE1 其核酸酶活性被激活, 对其底物 mRNA 进行剪切, 翻译转录因子 X 盒结合蛋白 1 (X-box binding protein 1, XBP1), XBP1 可以乙酰化而被激活为 XBP1s, XBP1s 入核激活下游转录因子缓解内质网应激, 当 UPR 持续存在时, XBP1s 可以形成二聚体被降解, 诱导细胞凋亡; 另外, IRE1 也可激活 Caspase-12, 通过 Caspase 途径诱导细胞

凋亡,但是冠状病毒对 Caspase-12 无影响^[43-45]。除了内质网凋亡途径,冠状病毒还可以引起线粒体内在凋亡途径,内质网应激时其稳态环被破坏,内质网内的 Ca^{2+} 释放到胞液中,然后进入线粒体中,影响线粒体及凋亡蛋白 Bcl-2 家族的活性^[43],所以内质网凋亡途径和线粒体凋亡途径并不是完全独立。

线粒体凋亡途径主要由细胞质内的凋亡诱导物激活线粒体促凋亡因子,正常状态下线粒体内膜几乎是不透水的,可以维持产生 ATP 所必需的电化学梯度,线粒体外膜含有丰富的电压依赖性阴离子通道(voltage dependent anion channel, VDAC),线粒体膜间隙内的蛋白会被选择性地释放到细胞质中;被激活的促凋亡因子会破坏线粒体外膜的完整性,使线粒体内的 Cyt c、凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)、凋亡酶激活因子 1 (apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1) 等凋亡相关蛋白释放到细胞质中, Cyt c 与 Apaf-1 及 Pro-caspase-9 形成三聚体激活 Caspase-9,通过 Caspase 级联反应进入细胞核激活 PARP, AIF 则直接穿过核膜进入细胞核,降解细胞 DNA,诱导细胞凋亡^[46]。

当细胞被冠状病毒感染时,冠状病毒如 SARS-CoV 的 M、N 蛋白和 3C 样蛋白酶(3C-like protease, 3CLpro)、TGEV 的 N 蛋白、PEDV 的 N 蛋白会引起细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,增加线粒体膜的通透性,均具有促凋亡功能,其中 SARS-CoV M 蛋白通过破坏磷酸肌醇激酶 PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase 1)与蛋白激酶 PKB/Akt (protein kinase B, PKB/Akt)的相互作用,降低 PKB/Akt 活性,减少磷酸化叉头转录因子 1 (phosphorylated forkhead transcription factor 1, FKHL1)和凋亡信号调节激酶(apoptosis signal-regulating kinase, ASK),激活 Caspase 8 和 9,细胞内游离脂肪酸浓度上升、钙浓度上升,当 Ca^{2+}

浓度超过正常阈值时,通过线粒体膜孔的形成引起线粒体肿胀,或者增加线粒体膜的通透性, Bcl-2 家族中促凋亡蛋白(Bak、Bax、Bad、Bik、Bid 等)浓度上升,线粒体外膜结构被破坏,当线粒体的外膜被损坏后,位于线粒体内膜上的 AIF 被钙依赖性钙蛋白酶(calcium-dependent calpain protease)裂解释放到细胞质,在核定位信号(nuclear localization signal, NLS)介导下, AIF 进入细胞核中,被裂解激活后的 AIF 具有切割 DNA 的功能,使细胞 DNA 片段化,促使细胞凋亡^[47-51]。同时, Bax 等促凋亡因子可以激活 Caspase 介导的细胞凋亡途径,即破坏线粒体外膜的完整性,诱导 MOMP,线粒体膜间隙中促细胞凋亡因子如 Apaf-1、Cyt c、Smac/DIABLO (direct IAP binding protein with low pI)和凋亡蛋白调控因子(second mitochondria-derived activator of caspases, Smac)、HtrA2/Omi 从线粒体内膜腔中释放出来,线粒体膜电位出现去极化,释放到细胞质中的 Apaf-1 与 Cyt c 和 Caspase-9 聚合成凋亡体,引发 Caspase 级联反应,激活 Caspase-3,被裂解激活后的 Caspase-3 穿过核膜进入细胞核,激活 DNA 修复酶 PARP, PARP 被裂解;另外,线粒体释放的 Smac 与凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)调控蛋白中的 BIR 序列结构特异性结合,即与 IAPs 特异结合,解除 IAPs 对 Caspase 的活性抑制, Caspase-3 使 DNA 修复酶 PARP 裂解,使得细胞核浓缩、片段化,促进细胞凋亡^[17,52-54] (图 3)。

2.3 冠状病毒通过 NF- κ B 信号途径诱导细胞凋亡

冠状病毒对 NF- κ B 信号途径的作用并不是直接的,而是通过拮抗干扰素信号途径或上调 Smad7 等细胞因子来抑制 NF- κ B 信号途径,抑制细胞生长途径,促使细胞凋亡。NF- κ B 的受体也在细胞膜外,所以这也是一种外在凋亡信号途径,但是具体机制有待进一步探索研究。

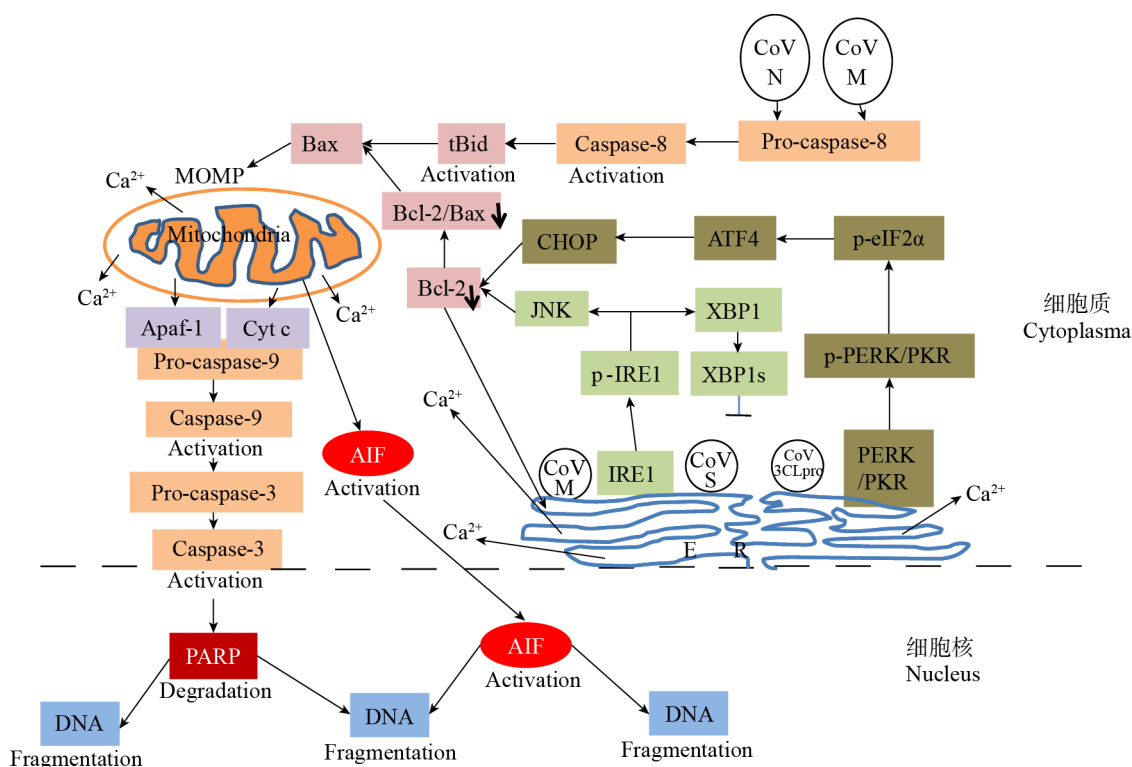


图3 冠状病毒引起的细胞内在凋亡途径

Figure 3 Intrinsic apoptotic pathway induced by coronavirus

细胞感染冠状病毒后,通过与细胞膜上的Toll样受体等相互作用,激活细胞先天免疫产生干扰素(interferon, IFN),激活细胞JAK信号转导子和转录信号级联激活子,刺激被感染细胞和免疫系统中未感染细胞干扰素刺激基因(IFN-stimulated genes, ISGs)转录,ISGs作用入侵的病原体或调节先天免疫和适应性免疫反应,IFN和ISG在免疫系统中不仅起抑制病原体传播作用,还参与不平衡免疫应答或过度炎症反应导致的组织损伤和障碍的修复过程,具有抗病毒、免疫调节和抗炎反应^[55];反过来,病毒抑制干扰素等免疫因子的表达以抵抗细胞的免疫反应,当ISGs不足以限制病毒的复制时,细胞只能通过致死被感染的细胞来阻断病毒的传播和再感染。在人海马神经细胞中, α 干扰素通过激活STAT1增加干扰素刺激基因15(ISG15)、泛素特异性肽酶18(USP18)和白细胞介素-6(IL-6)的表达,促进细

胞凋亡,具体机制可能与水通道蛋白4(aquaporin 4)的下调有关^[56-57]。冠状病毒的一些非结构蛋白,如 α 冠状病毒PEDV NSP1和NSP3,其中NSP1是pp1a和pp1a/b多聚蛋白N端第一个裂解产物,NSP3编码的木瓜样蛋白(papain-like protein, PLP)与NSP1、NSP3是III型干扰素拮抗剂,抑制IRF1介导的干扰素活性,从而诱导被感染细胞凋亡^[58-62]; γ 冠状病毒的IBV ORF3a由sgmRNA3多顺反子编码,IBV ORF3a对病毒复制是非必需的,但是具有抑制宿主I型干扰素产生的作用,冠状病毒通过拮抗干扰素抑制了NF- κ B的转录翻译表达,使病毒逃逸机体天然免疫防御屏障^[62-63],促进细胞凋亡。另外,在感染了PEDV的Vero细胞中,细胞p53蛋白表达上调,p53在细胞周期G1/S和G2/M中检测基因组的完整性,p53上升使细胞周期停滞于G0/G1期,即细胞离开细胞周期,阻滞进入S期,从而进行细胞受损DNA复制

前和有丝分裂前的修复,然而高浓度的 p53 只会增加细胞 DNA 的受损程度,同时 p53 是 NF- κ B 的抑制剂,抑制 NF- κ B 信号途径^[64-67],促进细胞进入凋亡程序。MERS-CoV 则可以通过上调 Smad7 和成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor 2, FGF2)的表达量以抑制 NF- κ B 和 TGF β 生长信号途径,促使侵染细胞发生凋亡,但是具体的作用蛋白未见报道^[68]。

3 冠状病毒抑制侵染细胞凋亡作用

冠状病毒侵染细胞,病毒蛋白与细胞凋亡相关受体结合,诱导细胞凋亡发生,细胞面临被瓦解的威胁,假如细胞凋亡发生在病毒复制前,病毒的繁殖传播就会被中断,所以冠状病毒在入侵细胞后,病毒要争取足够的时间进行基因复制蛋白合成,繁殖新一代病毒。冠状病毒的一些蛋白具有抗细胞凋亡作用,如位于内质网的病毒 E 蛋白和木瓜样蛋白酶(papain-like proteases, PLPs)具有抑制宿主细胞凋亡发生的作用。

PEDV E 蛋白对肠上皮细胞的生长、细胞周期、Cyclin A 的表达没有影响,但是会诱导产生细胞内质网应激,激活 NF- κ B, NF- κ B 负责上调 IL-8 和 BCL-2, Bcl-2 与促细胞凋亡蛋白竞争性结合,抑制 Bik/Nbk/Blk、Bid、Bad、Bax 的激活,促进细胞存活,从而抑制细胞凋亡发生^[68-71]; SARS-CoV 的 E 蛋白能抑制由病毒其它蛋白引起的 UPR, E 蛋白能够抑制内质网应激引起的内质网 Ca^{2+} 浓度的不平衡,而且抑制 N-糖基化导致的错误折叠或未折叠蛋白在内质网的积累,抑制 UPR 应激转导信号传感器中的 IRE1-XBP1,而不是 PERK/PKR-eIF2 α -ATF4-CHOP/GADD135 和 ATF6 通路,抑制 SARS-CoV 诱导的细胞凋亡,在细胞感染病毒的情况下, E 蛋白限制了细胞的凋亡,有利于病毒的复制产生及传播扩散^[44,71]。

冠状病毒 PLPs 是先天免疫反应的抑制因子, SARS-CoV 的 PLPs 具有降解 p53 的作用,在感染

早期, p53 激活 *Irf9* 和 *Irf7* 基因,诱导干扰素的产生;到感染晚期, PLP2 通过细胞癌蛋白 MDM2 介导的 p53 泛素化和核输出,降低 p53 的稳定性和转录活性,从而抑制 p53 介导的细胞抗病毒作用和细胞凋亡,细胞的增殖失去控制,确保病毒在被感染的细胞中繁殖^[72]。

4 总结

综上所述,大量数据表明冠状病毒的 S 蛋白具有结合细胞膜上死亡受体的作用,诱导细胞外在凋亡信号途径;病毒入侵细胞后,在细胞质中翻译产生的 S、M 蛋白聚集在内质网膜上,引起内质网应激,持续的 UPR 促进细胞诱导内质网途径的内细胞凋亡,同时 M 和 N 蛋白通过激活 Caspase-8、Caspase-9 诱导线粒体途径的细胞凋亡,内质网凋亡过程中,释放的 Ca^{2+} 增加内质网和线粒体膜的渗透性,促进细胞凋亡;一些冠状病毒的非结构蛋白和辅助蛋白通过拮抗干扰素的先天免疫应答诱导细胞凋亡。

通过外在途径凋亡的信号途径在细胞质中可以通过激活一系列 Caspase 级联信号传递入核诱导细胞凋亡,也可以通过线粒体凋亡信号传递诱导细胞凋亡;另外,内质网应激后诱导产生的内在凋亡信号途径和通过线粒体诱导凋亡信号途径相互之间并不是独立存在的,而是相互交叉、相互影响。

冠状病毒的同一种蛋白既可以在内质网途径中起诱导凋亡作用,也可以在线粒体途径中起诱导凋亡作用,或者在 Caspase 级联凋亡信号途径中起诱导凋亡作用,这说明了冠状病毒引起的细胞凋亡信号途径的多样性、广泛性、交叉性和网络状样复杂性,与侵染细胞相互作用的蛋白也比较繁多。但是冠状病毒抑制侵染细胞凋亡信号途径的蛋白截至目前发表的只有 E 蛋白和 PLPs 蛋白两种,说明冠状病毒侵染细胞后,在细胞存活或死亡的十字路口,诱导细胞凋亡是主流结果(表 1)。

表 1 冠状病毒蛋白在感染细胞凋亡途径中的作用

Table 1 Role of coronavirus protein in apoptotic pathway in infected cells

蛋白 Proteins	促凋亡作用 Pro-apoptotic effect		抑制凋亡作用 Anti-apoptotic effect
	外在凋亡途径 Extrinsic apoptotic pathway	内在凋亡途径 Intrinsic apoptotic pathway	
S	PEDV, TGEV, IBV, CCoV, SARS-CoV, MERS-CoV ^[34]	SARS-CoV ^[39]	—
M	—	SARS-CoV ^[47-48] , IBV ^[43]	—
N	—	SARS-CoV ^[48] , PEDV ^[17] , TEGV ^[50]	—
3CL ^{pro}	PEDV ^[62]	SARS-CoV ^[49]	—
NSP1, NSP3	PEDV ^[59]	—	—
ORF3a	IBV ^[65]	—	—
E	—	—	PEDV ^[69] , SARS-CoV ^[71]
PLPs	SARS-CoV ^[72]	—	SARS-CoV ^[72]

Note: —: No data.

5 讨论

α 、 β 、 γ 冠状病毒中感染人类和动物的几种主要病毒的 S、M、N 及 3CL^{pro} 蛋白对感染细胞都具有促进凋亡的作用,促凋亡的途径可以通过外在促凋亡途径,也可以通过破坏线粒体膜结构的内在促凋亡途径,另外还可以通过抑制干扰素迫使感染细胞发生凋亡。

相对地, SARS-CoV、PEDV 病毒的 E 蛋白及 SARS-CoV PLPs 蛋白具有抑制感染细胞凋亡的功能,促进细胞存活,让病毒有时间在宿主细胞内完成病毒的转录翻译和组装;冠状病毒具有既促进细胞凋亡又抑制细胞凋亡的双重作用,典型地表现了细胞在受到病毒感染后,细胞与病毒之间的一场“殊死搏斗”,当细胞生存环境遭受病毒不可逆转的破坏时,细胞不得不启动凋亡机制,阻止病毒的复制、传播和扩散;另一方面,对病毒而言,病毒为了争取足够的时间进行复制、组装和传播扩散代代相传,需要抑制细胞过早地进入凋亡程序,“生”与“死”的关键,取决于病毒蛋白与细胞周期、免疫和凋亡因子之间的平衡状态。

冠状病毒存在多种血清型,有抗原变异,通过单一疫苗进行预防免疫比较困难,目前还没有特异和有效的治疗措施,了解病毒及其蛋白在细胞内的感染凋亡或抗凋亡作用机制及途径,通过靶向蛋白

表达,诱导细胞凋亡,抑制病毒的复制,以达到控制病毒的感染和传播的目的。比如 SARS-CoV、PEDV 的 S 蛋白,在细胞内和细胞膜上分别可以通过细胞膜死亡受体和内质网应激启动细胞凋亡信号途径,诱导被感染细胞凋亡,从而阻断病毒的释放和传播,作为控制冠状病毒的一种方法,值得深入、具体、详细地研究和实践。

REFERENCES

[1] Liu PL, Shi L, Zhang W, et al. Prevalence and genetic diversity analysis of human coronaviruses among cross-border children[J]. Virology Journal, 2017, 14: 230

[2] Li F, Li WH, Farzan M, et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor[J]. Science, 2005, 309(5742): 1864-1868

[3] Toh TH, Hii KC, Fieldhouse JK, et al. High prevalence of viral infections among hospitalized pneumonia patients in equatorial Sarawak, Malaysia[J]. Open Forum Infectious Diseases, 2019, 6(3): ofz074

[4] Widjaja I, Wang CY, van Haperen R, et al. Towards a solution to MERS: protective human monoclonal antibodies targeting different domains and functions of the MERS-coronavirus spike glycoprotein[J]. Emerging Microbes & Infections, 2019, 8(1): 516-530

[5] Campbell F, Cori A, Ferguson N, et al. Bayesian inference of transmission chains using timing of symptoms, pathogen genomes and contact data[J]. PLoS Computational Biology, 2019, 15(3): e1006930

[6] Chen FZ, Knutson TP, Rossow S, et al. Decline of transmissible gastroenteritis virus and its complex evolutionary relationship with porcine respiratory coronavirus in the United States[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 3953

- [7] Koonpaew S, Teeravechyan S, Frantz PN, et al. PEDV and PDCoV pathogenesis: the interplay between host innate immune responses and porcine enteric coronaviruses[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2019, 6: 34
- [8] Amarasinghe A, de Silva Senapathi U, Abdul-Cader MS, et al. Comparative features of infections of two Massachusetts (Mass) infectious bronchitis virus (IBV) variants isolated from Western Canadian layer flocks[J]. *BMC Veterinary Research*, 2018, 14: 391
- [9] Cruz JLG, Sola I, Becares M, et al. Coronavirus gene 7 counteracts host defenses and modulates virus virulence[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(6): e1002090
- [10] Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, et al. Discovery of seven novel mammalian and avian coronaviruses in the genus *Deltacoronavirus* supports bat coronaviruses as the gene source of *Alphacoronavirus* and *Betacoronavirus* and avian coronaviruses as the gene source of *Gammacoronavirus* and *Deltacoronavirus*[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(7): 3995-4008
- [11] Brandão PE, Hora AS, Silva SOS, et al. Complete genome sequence of *Avian coronavirus* strain D274[J]. *Microbiology Resource Announcements*, 2018, 7(8): e01003-18
- [12] Tao J, Li BQ, Cheng JH, et al. Preparation and characterization of an attenuated porcine epidemic diarrhea virus strain by serial passaging[J]. *Archives of Virology*, 2018, 163(11): 2997-3004
- [13] Eckerle LD, Becker MM, Halpin RA, et al. Infidelity of SARS-CoV nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(5): e1000896
- [14] Mai KJ, Li D, Wu JL, et al. Complete genome sequences of two porcine deltacoronavirus strains, CHN-GD16-03 and CHN-GD16-05, isolated in southern China, 2016[J]. *Genome Announcements*, 2018, 6(4): e01545-17
- [15] Wang GS, Zhang M, Zhu YM, et al. Cloning, expression and antibody preparation of S1 fragment of porcine epidemic diarrhea virus epidemic strain[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 47(12): 103-107 (in Chinese)
王国松, 张明, 朱于敏, 等. 猪流行性腹泻病毒流行毒株 S1 片段的克隆表达及其抗体制备[J]. *畜牧与兽医*, 2015, 47(12): 103-107
- [16] Wang RY, Yu RS, Chen BQ, et al. Identification of host cellular proteins interacting with porcine epidemic diarrhea virus M protein[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(6): 1434-1442 (in Chinese)
王瑞阳, 于瑞嵩, 陈冰清, 等. 与猪流行性腹泻病毒 M 蛋白互作的宿主蛋白的鉴定[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(6): 1434-1442
- [17] Li BX, Ge JW, Li YJ. Porcine aminopeptidase N is a functional receptor for the PEDV coronavirus[J]. *Virology*, 2007, 365(1): 166-172
- [18] Hu XX, Yu RS, Si FS, et al. ORF3 protein promotes the proliferation of porcine epidemic diarrhea virus on vero cells[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(7): 1508-1517 (in Chinese)
胡晓霞, 于瑞嵩, 司伏生, 等. ORF3 蛋白促进猪流行性腹泻病毒在 Vero 细胞上的增殖[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(7): 1508-1517
- [19] Eléouët JF, Slee EA, Saurini F, et al. The viral nucleocapsid protein of transmissible gastroenteritis coronavirus (TGEV) is cleaved by caspase-6 and -7 during TGEV-induced apoptosis[J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(9): 3975-3983
- [20] Kim Y, Lee C. Porcine epidemic diarrhea virus induces caspase-independent apoptosis through activation of mitochondrial apoptosis-inducing factor[J]. *Virology*, 2014, 460-461: 180-193
- [21] Yang Y, Ye F, Zhu N, et al. Middle east respiratory syndrome coronavirus ORF4b protein inhibits type I interferon production through both cytoplasmic and nuclear targets[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 17554
- [22] Yan R, Shen C, Lei L, et al. SARS-CoV infection induces apoptosis of vero E6[J]. *Virologica Sinica*, 2003, 18(6): 541-543 (in Chinese)
鄢然, 沈超, 雷磊, 等. SARS-CoV 感染 Vero E6 细胞诱导细胞凋亡[J]. *中国病毒学*, 2003, 18(6): 541-543
- [23] Chu H, Zhou J, Wong BHY, et al. Middle east respiratory syndrome coronavirus efficiently infects human primary T lymphocytes and activates the extrinsic and intrinsic apoptosis pathways[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2016, 213(6): 904-914
- [24] Han XX, Tian YM, Guan R, et al. Infectious bronchitis virus infection induces apoptosis during replication in chicken macrophage HD11 cells[J]. *Viruses*, 2017, 9(8): 198
- [25] Antolikova NR, Kello M, Zigova M, et al. *Naja ashei* venom induces mitochondria-mediated apoptosis in human colorectal cancer cells[J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2019, 66(2): 207-213
- [26] Sprick MR, Weigand MA, Rieser E, et al. FADD/MORT1 and caspase-8 are recruited to TRAIL receptors 1 and 2 and are essential for apoptosis mediated by TRAIL receptor 2[J]. *Immunity*, 2000, 12(6): 599-609
- [27] Werner AB, de Vries E, Tait SWG, et al. TRAIL receptor and CD95 signal to mitochondria via FADD, Caspase-8/10, Bid, and Bax but differentially regulate events downstream from truncated Bid[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(43): 40760-40767
- [28] Liao Y, Fung TS, Huang M, et al. Upregulation of CHOP/GADD153 during coronavirus infectious bronchitis virus infection modulates apoptosis by restricting activation of the extracellular signal-regulated kinase pathway[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(14): 8124-8134
- [29] Yang SY, Wei FL, Hu LH, et al. PERK-eIF2 α -ATF4 pathway mediated by endoplasmic reticulum stress response is involved in osteodifferentiation of human periodontal ligament cells under cyclic mechanical force[J]. *Cellular*

- Signalling, 2016, 28(8): 880-886
- [30] Ali MMU, Bagratuni T, Davenport EL, et al. Structure of the Ire1 autophosphorylation complex and implications for the unfolded protein response[J]. The EMBO Journal, 2011, 30(5): 894-905
- [31] Willis S, Day CL, Hinds MG, et al. The Bcl-2-regulated apoptotic pathway[J]. Journal of Cell Science, 2003, 116(20): 4053-4056
- [32] Galluzzi L, Joza N, Tasdemir E, et al. No death without life: vital functions of apoptotic effectors[J]. Cell Death & Differentiation, 2008, 15(7): 1113-1123
- [33] Ang RL, Ting AT. Detection of RIPK1 in the FADD-containing death inducing signaling complex (DISC) during necroptosis[A]//Ting AT. Programmed Necrosis: Methods and Protocols[M]. New York: Humana Press, 2018: 101-107
- [34] Chen YF, Zhang ZB, Li J, et al. Porcine epidemic diarrhea virus S1 protein is the critical inducer of apoptosis[J]. Virology Journal, 2018, 15(1): 170
- [35] Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics[J]. Developmental Cell, 2011, 21(1): 92-101
- [36] Liu H, Yang X, Zhang ZK, et al. Comparative transcriptome analysis reveals induction of apoptosis in chicken kidney cells associated with the virulence of nephropathogenic infectious bronchitis virus[J]. Microbial Pathogenesis, 2017, 113: 451-459
- [37] Zhong YX, Liao Y, Fang SG, et al. Up-regulation of Mcl-1 and Bak by coronavirus infection of human, avian and animal cells modulates apoptosis and viral replication[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e30191
- [38] Marfè G, Tafani M, Fiorito F, et al. Involvement of FOXO transcription factors, TRAIL-FasL/Fas, and sirtuin proteins family in canine coronavirus type II-induced apoptosis[J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27313
- [39] Chan CP, Siu KL, Chin KT, et al. Modulation of the unfolded protein response by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein[J]. Journal of Virology, 2006, 80(18): 9279-9287
- [40] Cattie DJ, Richardson CE, Reddy KC, et al. Mutations in nonessential *eIF3k* and *eIF3l* genes confer lifespan extension and enhanced resistance to ER stress in *Caenorhabditis elegans*[J]. PLoS Genetics, 2016, 12(9): e1006326
- [41] Hayner JN, Shan JX, Kilberg MS. Regulation of the *ATF3* gene by a single promoter in response to amino acid availability and endoplasmic reticulum stress in human primary hepatocytes and hepatoma cells[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms, 2018, 1861(2): 72-79
- [42] Mihailidou C, Chatzistamou I, Kiaris H. Chop/GADD153[A]//Choi S. Encyclopedia of Signaling Molecules[M]. New York: Springer, 2016
- [43] Liang JQ, Fang SG, Yuan Q, et al. N-linked glycosylation of the membrane protein ectodomain regulates infectious bronchitis virus-induced ER stress response, apoptosis and pathogenesis[J]. Virology, 2019, 531: 48-56
- [44] Fung TS, Liu DX. Activation of the c-Jun NH₂-terminal kinase pathway by coronavirus infectious bronchitis virus promotes apoptosis independently of c-Jun[J]. Cell Death & Disease, 2017, 8(12): 3215
- [45] Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β [J]. Nature, 2000, 403(6765): 98-103
- [46] Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, et al. Mitochondrial release of caspase-2 and -9 during the apoptotic process[J]. Journal of Experimental Medicine, 1999, 189(2): 381-394
- [47] Tsoi H, Li L, Chen ZS, et al. The SARS-coronavirus membrane protein induces apoptosis via interfering with PDK1-PKB/Akt signalling[J]. Biochemical Journal, 2014, 464(3): 439-447
- [48] Zhao G, Shi SQ, Yang Y, et al. M and N proteins of SARS coronavirus induce apoptosis in HPF cells[J]. Cell Biology and Toxicology, 2006, 22(5): 313-322
- [49] Lin CW, Lin KH, Hsieh TH, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 3C-like protease-induced apoptosis[J]. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2006, 46(3): 375-380
- [50] Ding L, Huang Y, Du Q, et al. TGEV nucleocapsid protein induces cell cycle arrest and apoptosis through activation of p53 signaling[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2014, 445(2): 497-503
- [51] Ding L, Li JW, Li WH, et al. p53- and ROS-mediated AIF pathway involved in TGEV-induced apoptosis[J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2018, 80(11): 1775-1781
- [52] Candé C, Cohen I, Daugas E, et al. Apoptosis-inducing factor (AIF): a novel caspase-independent death effector released from mitochondria[J]. Biochimie, 2002, 84(2/3): 215-222
- [53] Candé C, Vahsen N, Garrido C, et al. Apoptosis-inducing factor (AIF): caspase-independent after all[J]. Cell Death & Differentiation, 2004, 11(6): 591-595
- [54] Lee YJ, Lee C. Porcine deltacoronavirus induces caspase-dependent apoptosis through activation of the cytochrome c-mediated intrinsic mitochondrial pathway[J]. Virus Research, 2018, 253: 112-123
- [55] Peteranderl C, Herold S. The impact of the interferon/TNF-related apoptosis-inducing ligand signaling axis on disease progression in respiratory viral infection and beyond[J]. Frontiers in Immunology, 2017, 8: 313
- [56] Ding L, Li JW, Li WH, et al. p53 mediated IFN- β signaling to affect viral replication upon TGEV infection[J]. Veterinary Microbiology, 2018, 227: 61-68
- [57] Borsini A, Cattaneo A, Malpighi C, et al. Interferon-alpha reduces human hippocampal neurogenesis and increases apoptosis via activation of distinct STAT1-dependent mechanisms[J]. International Journal of

- Neuropsychopharmacology, 2018, 21(2): 187-200
- [58] Kocherhans R, Bridgen A, Ackermann M, et al. Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (PEDV) genome sequence[J]. Virus Genes, 2001, 23(2): 137-144
- [59] Zhang QZ, Shi KC, Yoo D. Suppression of type I interferon production by porcine epidemic diarrhea virus and degradation of CREB-binding protein by nsp1[J]. Virology, 2016, 489: 252-268
- [60] Kamitani W, Narayanan K, Huang C, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 protein suppresses host gene expression by promoting host mRNA degradation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(34): 12885-12890
- [61] Zhang QZ, Ke HZ, Blikslager A, et al. Type III interferon restriction by porcine epidemic diarrhea virus and the role of viral protein nsp1 in IRF1 signaling[J]. Journal of Virology, 2018, 92(4): e01677-17
- [62] Wang D, Fang LR, Shi YL, et al. Porcine epidemic diarrhea virus 3C-like protease regulates its interferon antagonism by cleaving NEMO[J]. Journal of Virology, 2016, 90(4): 2090-2101
- [63] Cavanagh D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus[J]. Veterinary Research, 2007, 38(2): 281-297
- [64] Doyle N, Neuman BW, Simpson J, et al. Infectious bronchitis virus nonstructural protein 4 alone induces membrane pairing[J]. Viruses, 2018, 10(9): 477
- [65] Kint J, Dickhout A, Kutter J, et al. Infectious bronchitis coronavirus inhibits STAT1 signaling and requires accessory proteins for resistance to type I interferon activity[J]. Journal of Virology, 2015, 89(23): 12047-12057
- [66] Wawryk-Gawda E, Chylińska-Wrzos P, Lis-Sochocka M, et al. P53 protein in proliferation, repair and apoptosis of cells[J]. Protoplasma, 2014, 251(3): 525-533
- [67] Sun P, Wu HY, Huang JL, et al. Porcine epidemic diarrhea virus through p53-dependent pathway causes cell cycle arrest in the G0/G1 phase[J]. Virus Research, 2018, 253: 1-11
- [68] Heung ML, Yao Y, Jia L, et al. MERS coronavirus induces apoptosis in kidney and lung by upregulating Smad7 and FGF2[J]. Nature Microbiology, 2016. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.4
- [69] Xu XG, Zhang HL, Zhang Q, et al. Porcine epidemic diarrhea virus E protein causes endoplasmic reticulum stress and up-regulates interleukin-8 expression[J]. Virology Journal, 2013, 10: 26
- [70] Petros AM, Nettesheim DG, Wang Y, et al. Rationale for Bcl-x_L/Bad peptide complex formation from structure, mutagenesis, and biophysical studies[J]. Protein Science, 2000, 9(12): 2528-2534
- [71] DeDiego ML, Nieto-Torres JL, Jiménez-Guardeño JM, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein regulates cell stress response and apoptosis[J]. PLoS Pathogens, 2011, 7(10): e1002315
- [72] Yuan L, Chen ZB, Song SS, et al. p53 degradation by a coronavirus papain-like protease suppresses type I interferon signaling[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(5): 3172-3182