

文章编号: 1004-0374(2010)12-1264-07

# 人防御素的抗病毒免疫作用及其研究进展

耿放, 王军平\*

(第三军医大学全军复合伤研究所, 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400038)

**摘要:** 人防御素是由中性粒细胞、小肠 Paneth 细胞以及粘膜上皮细胞等产生的一类内源性阳离子多肽。最早因其具有广谱抗菌作用而被广泛关注。近年来研究发现, 防御素对病毒也具有显著抑制作用, 其抗病毒效应表现在多个方面。除了能够直接作用于病毒外, 此类多肽分子还可以通过介导免疫反应来间接发挥抗病毒作用。本文就人防御素的抗病毒作用机理及其研究进展进行了综述, 期望能够加强人们对防御素生物学功能的认识, 并为开发相关抗病毒药物提供参考。

**关键词:** 人防御素; 抗病毒作用; 免疫调节; 内源性阳离子多肽

**中图分类号:** R392.1      **文献标识码:** A

## Human defensin in Antiviral immunity and its research progress

GENG Fang, WANG Jun-Ping\*

(State Key Lab of Trauma, Burn and Combined Injury, Institute of Combined Injury of PLA, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract:** Human defensins are endogenous cationic polypeptides with broad spectrum of antibacterial activities, produced by neutrophil, Paneth cell and mucosal epithelial cells. In recent years, in addition to antibacterial activities, defensins were also found to have remarkable inhibitory effects against virus at several aspects, including direct and indirect antiviral activities mediated by immune reactions. In this review, the antiviral mechanisms of human defensins and its research progresses are described, with the aim of providing a comprehensive understanding of the biological functions of human defensins and theoretical possibilities for the development of defensin-based antiviral drugs.

**Key words:** human defensin; antiviral activity; immune regulation; endogenous cationic polypeptide

防御素(defensins)最早是由Lehrer研究小组于1980年在兔肺泡巨噬细胞中分离、纯化并命名<sup>[1]</sup>。随后, 在其它哺乳动物、两栖类动物及昆虫体内中也相继分离得到此类生物活性物质<sup>[2]</sup>。作为天然内源性肽类抗生素(endogenous peptide antibiotic), 防御素的广谱杀菌和抑菌作用以及不易使细菌产生耐药的特点已被大家所公认。近年来人们又注意到防御素在抗病毒免疫中也发挥着重要作用, 并不断在此方面取得研究进展<sup>[3]</sup>。尤其是随着人们对病毒感染过程和病原相关分子模式认识的逐渐深入, 防御素在机体天然免疫防线中的地位越来越受到重视。本文就人防御素的分类、表达和分泌特点进行了介

绍, 并结合最新进展对人防御素的抗病毒作用及可能机理进行了重点阐述。

## 1 人防御素简介

### 1.1 防御素的结构与分类

人防御素是存在于人体多形核中性粒细胞、巨噬细胞、小肠 Peneth 细胞、生殖道与呼吸道上皮

收稿日期: 2010-06-29; 修回日期: 2010-10-08

基金项目: 国家自然科学基金(30771892); 重庆市院士基金(CSTC, 2007AB5022)

\* 通讯作者: Tel: 023-68752283; E-mail: wangjunp@yahoo.com

细胞中的一组同源性较高、富含精氨酸和半胱氨酸的阳离子多肽,具有两亲性,分子量为3500~5000 Da。成熟的人防御素分子含有29~50个氨基酸残基,其中包括由6个保守半胱氨酸残基所形成的3个分子内二硫键<sup>[4]</sup>。

根据半胱氨酸残基位置及二硫键连接方式的不同,人防御素主要分为 $\alpha$ 和 $\beta$ 两种类型。 $\alpha$ 防御素分子内二硫键的连接方式为:Cys<sub>1</sub>-Cys<sub>6</sub>、Cys<sub>2</sub>-Cys<sub>4</sub>、Cys<sub>3</sub>-Cys<sub>5</sub>;  $\beta$ 防御素相应二硫键连接方式为:Cys<sub>1</sub>-Cys<sub>5</sub>、Cys<sub>2</sub>-Cys<sub>4</sub>、Cys<sub>3</sub>-Cys<sub>6</sub><sup>[5,6]</sup>。编码人防御素分子的基因大多集中位于第8对染色体8p23.1约2 mb的区域内。这些基因均包含3个外显子,其中第一个外显子编码疏水性前导序列,第二个外显子编码成熟多肽主体,第三个外显子为非编码序列。此外,编码 $\alpha$ 和 $\beta$ 防御素的基因有部分重叠区,提示两者可能进化自同一祖基因<sup>[7]</sup>。

现已发现6种人 $\alpha$ 防御素基因(DEF1~6),分别编码多肽HNP-1~4、HD-5和HD-6,其中HNP-1~4因最早在骨髓中性粒细胞中发现,又被称为髓源性防御素(myeloid defensins),但后来发现这些防御素在粘膜表面和其他一些组织中也有表达<sup>[8]</sup>。HD-5和HD-6则由于最早被发现存储于肠绒毛基底部Paneth细胞颗粒内,因此又称肠源性防御素(enteric defensins),不过近来研究发现泌尿和女性生殖道上皮细胞也表达和分泌HD-5和HD-6<sup>[9]</sup>。人 $\beta$ 防御素基因多达30种以上<sup>[10]</sup>,现研究较多的主要是HBD-1~6,它们广泛表达于上皮细胞,在大多数皮肤和粘膜组织中都可以检测到它们的存在<sup>[11]</sup>。

## 1.2 防御素的表达与分泌

根据序列分析,防御素基因的直接翻译产物是含93~95个氨基酸残基的防御素前体分子(Prepro-defensins),其中包括19个氨基酸残基组成的疏水性信号肽、40~45个氨基酸残基组成的前导肽和剩余氨基酸残基构成的成熟肽区<sup>[3]</sup>。防御素前体分子基本没有抗微生物活性,必须切去N-端的酸性前导序列才能成为带正电荷、成熟的防御素分子<sup>[12]</sup>。

HNP-1~4主要在骨髓早幼粒细胞中进行合成,之后成熟并储存在中性粒细胞的初级颗粒中<sup>[13]</sup>。与HNP-1~4不同的是,HD-5和HD-6分泌出细胞的形式为前肽,之后在细胞外被胰蛋白酶加工为成熟肽<sup>[14]</sup>。研究发现在小鼠肠道中的 $\alpha$ 防御素-隐窝素(cryptdin)是被基质金属蛋白酶-7(MMP-7)加工成

熟,其作用是将防御素前端区域部分而非全部切除,这样可以保持其在体内的抗酶解能力<sup>[15]</sup>。

根据种类和所处部位的不同,人防御素的表达可分为组成型表达和诱导型表达两种方式<sup>[16]</sup>。防御素的诱导表达与Toll样受体(TLR)介导的胞内信号传导途径相关,创伤和感染均能引起其表达上调。激活源可以是病毒的dsRNA,细菌的肽聚糖、脂多糖、鞭毛素或膜蛋白等<sup>[17]</sup>。

近来人们对防御素的拷贝数变异(copy-number polymorphism, CNP)和单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP)也十分关注,推测它们可能与机体对病毒、细菌的易感性有关。尤其是人 $\beta$ 防御素基因(DEFB)的拷贝数变化很大,其重复片段序列长度不小于240 kb。有研究表明,在急性淋巴细胞白血病儿童中,携带DEFB1变异体的数量与疱疹病毒的感染率密切相关<sup>[18]</sup>。虽然这些防御素基因表达水平的变化尚不清楚,但人们已经发现防御素基因的CNP和SNP与哮喘发生、HIV-1易感性等有着内在联系<sup>[19-21]</sup>。

## 2 人防御素的抗病毒活性与作用机制

自Lehrer等于1985年发现粒细胞来源的多肽具有抗病毒活性以来<sup>[22]</sup>,人们逐渐开始关注防御素在机体天然免疫中的抗病毒作用。截至目前,研究证实防御素对人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、单纯性疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)、杆状病毒(baculovirus)、流感病毒(influenza virus, IV)、人呼吸道合胞病毒(human respiratory syncytial virus, RSV)、水泡性口膜炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)等多种有包膜病毒,以及人腺病毒(human adenovirus, HadV)、人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)、BK病毒(BK virus, BKV)等无包膜病毒均有一定的抑制作用。针对不同类型的病毒和靶细胞,防御素的抗病毒作用机制有着共同的规律,但也不尽相同<sup>[23]</sup>。

### 2.1 抗有包膜病毒感染

在对防御素抗菌作用机制的探索中,研究者相继提出了“穿孔模型”、“地毯模型”、“代谢阻滞模型”等学说<sup>[24]</sup>。因为病毒包膜与细菌细胞膜都是双层脂膜结构,人们推测防御素的抗病毒作用与其抗菌作用相似,即带正电荷的防御素阳离子多肽与带负电的病毒胞膜发生结合并破坏脂膜层是其

发挥作用的必要步骤<sup>[25, 26]</sup>。防御素抗有包膜病毒的效应主要通过阻断病毒进入靶细胞的过程来发挥：一方面它可以直接破坏病毒脂质包膜，或与病毒包膜上糖蛋白结合，从而使病毒丧失结合活性；另一方面防御素也可以作用于靶细胞，通过影响相关信号通路而使靶细胞上的病毒结合受体表达下调或活性受阻，从而间接阻止病毒对细胞的感染。

### 2.1.1 抗HIV作用

以往研究发现机体粘膜，如皮肤、口腔、生殖道在 HIV 的诱导下可以增加 HBD-2、3 等防御素的表达，而且所诱导表达的防御素对 HIV 感染有实质性抑制作用<sup>[27, 28]</sup>。在研究抗 HIV 感染机制的过程中，人们发现防御素在 HIV 生活周期的多个阶段都可以发挥抑制作用，包括抑制 HIV 入核、反转录、整合等过程<sup>[29]</sup>。Feng 等<sup>[30, 31]</sup>研究报道 HBD-2、3 不仅能够与病毒进行直接作用，而且还以通过间接作用使 CD4<sup>+</sup>T 细胞上的 HIV 辅助受体 CXCR4 或 CCR5 表达下调或发生内化，进而阻止 HIV-1 进入胞内。此外，Furci 等<sup>[32]</sup>的研究结果表明， $\alpha$  防御素可以通过特异性结合 HIV-1 的主要细胞受体 CD4 和病毒囊膜糖蛋白 gp120，竞争性地抑制 HIV 病毒对靶细胞的黏附，同时也通过下调靶细胞 CD4 的表达来阻碍病毒的早期入侵过程。

### 2.1.2 抗HSV作用

抑制 HSV 的感染是防御素最早被发现的抗病毒作用<sup>[22, 33]</sup>。目前研究表明，6 种人  $\alpha$  防御素和 3 种人  $\beta$  防御素在生理浓度下均能抑制 HSV 的感染，其中 HNP-4、HD-6 和 HBD-3 主要对 HSV 的黏附与入胞过程有抑制作用，而 HNP-1~3 和 HD-5 不仅可以抑制 HSV 的黏附与入胞过程，而且在病毒进入细胞数小时后还能够发挥抑制效应，这可能与不同防御素结合病毒的部位不同相关<sup>[34]</sup>。Sinha 等<sup>[35]</sup>证明无论是用兔  $\alpha$  防御素 NP-1 预处理 HSV-2，还是预处理靶细胞都可以达到阻止 HSV-2 感染的目的，同时还发现病毒壳皮蛋白 VP16 不能转运入核。说明防御素可以在多个环节阻止 HSV 与细胞膜融合、复制以及细胞间感染。在合成新型防御素的研究中发现，hBD-1 的内部结构域和 hBD3 的 C 末端区域可以增强多肽抗 HSV 的能力，同时降低盐浓度对其作用的影响<sup>[36]</sup>。

### 2.1.3 抗IV作用

流感病毒 (IV) 主要通过血凝素介导而与细胞发

生融合并进入靶细胞内。研究表明 HNP-1~3, HBD-1、HBD-3 对 IV 感染都有抑制作用，在受到病毒刺激时这些防御素分子的表达与分泌会显著增加<sup>[6, 33]</sup>。它们抗 IV 的作用机制也主要表现在以下两方面：一是直接与 IV 表面的血凝素结合，使糖蛋白固化并形成交联网而阻止病毒包膜与细胞膜的融合<sup>[37]</sup>；二是抑制靶细胞内蛋白激酶 C (PKC) 的活性，通过调控病毒复制依赖的信号通路而达到抑制流感病毒基因复制及病毒蛋白合成的目的<sup>[38]</sup>。

同时，另一些研究也指出防御素对包膜病毒的作用还存在不确定性。如 Klotman 等<sup>[39]</sup>发现 HD-5 和 HD-6 促进了淋病奈瑟菌感染后 HIV 的再感染，这种作用主要发生在病毒侵入的初期，并不依赖于 CD4 和病毒蛋白复合受体，而且受防御素肽链结构的影响。另外，Tanabe 等<sup>[40]</sup>的研究结果显示，猕猴髓源性防御素 RMAD-4 与小鼠肠源性防御素 Crp-3 同属于  $\alpha$  防御素，而对 HIV 感染却有截然不同的效果，前者能有效抑制 HIV 感染，而后者却能使感染增强 3 倍，这种效应差异产生的机制尚不清楚。

目前看来，防御素对包膜病毒的抑制是一种综合作用。一方面是对病毒颗粒的直接灭活，包括攻击包膜与结合包膜蛋白；另一方面作用于靶细胞，下调病毒相关受体以及与病毒生存相关的信号通路来实现。

## 2.2 抗无包膜病毒感染

近年来的研究已经证明防御素对无包膜病毒也具有明确的抑制作用。但无包膜病毒没有脂质包膜和包膜糖蛋白，防御素无法通过破坏膜结构或阻碍病毒蛋白与受体结合来直接灭活病毒，因此，防御素抗无包膜病毒的作用及机理与抗包膜病毒并不完全相同。

Buck 等<sup>[41]</sup>的研究结果表明，人  $\alpha$  防御素在生理浓度下能够显著抑制人乳头状瘤病毒 (HPV) 的感染。即使在病毒攻击细胞数小时后再加入 HNP-1~3 或 HD-5，它们对病毒感染的抑制作用仍然有效。进一步研究发现，防御素并没有直接影响病毒颗粒与靶细胞的结合和病毒的内化过程，而影响了 HPV 从细胞内小囊泡释放并运至细胞核的过程。

人腺病毒 (HAdV) 是广泛存在的一种无包膜病毒。Smith 等<sup>[42]</sup>研究报道，微摩尔浓度的人  $\alpha$  防御素即能抑制 HAdV 的感染，其机制目前认为是依靠防御素直接结合腺病毒的裸露外壳使其不能发生构

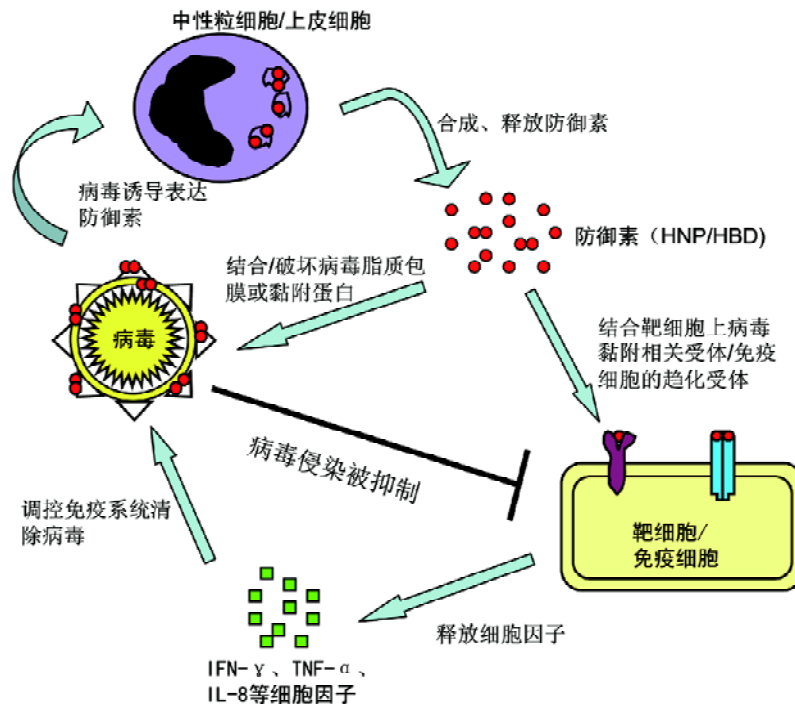


图1 防御素抗有包膜病毒机制图示

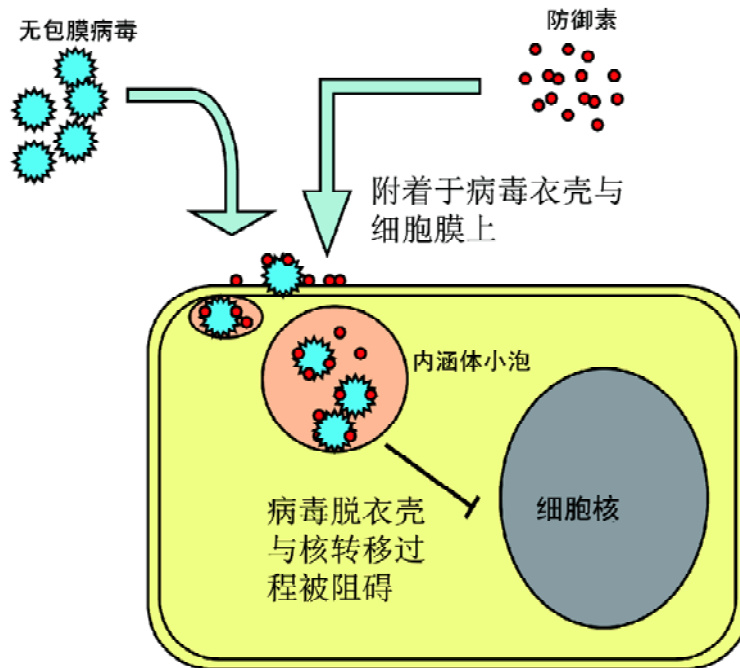


图2 防御素阻碍无包膜病毒脱衣壳过程图示

象改变并阻碍病毒蛋白 pVI 的暴露, 从而阻止病毒核酸由内涵体中释放, 导致病毒颗粒在早期内涵体和溶酶体中积聚而无法进入感染周期。相关研究人员采用BrdU核酸标记技术也进一步证实防御素能够有效抑制病毒的脱衣壳过程<sup>[42, 43]</sup>。最近研究发现,

HA<sub>2</sub>V 的 A、B1、B2、C、E 血清型对防御素敏感, 但 D、F 不敏感, 推测可能与防御素自身折叠有关。此外, 病毒嵌合体实验也证实防御素可与病毒包膜蛋白发生直接作用<sup>[44]</sup>。

BK 病毒(BKV) 感染是威胁器官移植成功的主要

障碍之一。研究发现,在 BKV 感染 Vero 细胞之前,加入 HNP-1 或 HD-5 能够显著抑制病毒感染。推测防御素会与病毒发生直接作用,导致病毒颗粒聚集而阻止它与宿主细胞结合。之后又发现,HD-5 对其他多瘤病毒属的病毒也有类似抑制作用<sup>[45]</sup>。

越来越多的研究表明,防御素对 HA $\nu$  和 HPV 等无包膜病毒的衣壳蛋白具有较高的亲和力是其发挥抑制作用的基础,推测不同病毒的衣壳蛋白上存在着类似的高亲和力位点与防御素进行结合。然而,HA $\nu$  和 HPV 在蛋白组成和进化上有着明显的差异,防御素为什么能产生这种类似的作用还有待阐明。

### 3 防御素的免疫调节作用

研究表明防御素能通过调节免疫反应,间接发挥抑制病毒感染作用。防御素能够诱导炎症细胞分泌细胞因子,激活辅助性 T 淋巴细胞、浆细胞等来加强机体免疫反应,提高机体抵抗微生物感染的能力。此外,防御素还可以作为重要的趋化因子,募集炎症相关细胞和淋巴细胞到达感染部位,促进幼稚树突细胞的成熟,加速获得性免疫的产生。

#### 3.1 趋化作用与诱导产生细胞因子

研究证实,防御素在低浓度时就有趋化活性,对单核细胞、幼稚树突状细胞、记忆 T 细胞、巨噬细胞、肥大细胞等均有趋化作用。将多种  $\alpha$  防御素的比较,发现它们的趋化能力在进化过程中十分保守<sup>[46]</sup>。其作用主要是通过与免疫细胞表面的 CCR6 等趋化受体结合,动员免疫细胞在局部聚集,并促使 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等前炎症细胞因子分泌以清除病原体<sup>[47]</sup>。体外实验证明,人 HNP-1 能浓度依赖性地刺激呼吸道上皮细胞增殖并增加 IL-8 和 CF-1 的产生,这些细胞因子又可以吸引更多中性粒细胞,导致大量防御素被释放,从而形成一个正反馈作用。表明防御素与呼吸系统炎症的发生与发展有重要的关联<sup>[48, 49]</sup>。

#### 3.2 增强获得性免疫

获得性免疫在机体抵抗病毒等包内寄生微生物入侵的过程中发挥着决定性的作用。而树突状细胞被证明是连接天然免疫和获得性免疫的重要桥梁。以往研究显示,人  $\beta$  防御素可以通过激活 CCR6 与 TLR-4 来促进树突状细胞的成熟和上调共刺激分子的表达,从而加强机体获得性免疫反应<sup>[50]</sup>。

Brogden KA 等发现 HBD-2 能够促进相关细胞分泌 IL-12、IFN- $\gamma$  等抗病毒免疫因子,同时激活 T 辅助细胞和细胞毒性 T 细胞(CTL),此外, HBD-2 和 HNP-1 还能够提高小鼠体内的 IgG 水平<sup>[51]</sup>。由于认识到防御素在天然免疫和获得性免疫中的作用,一些研究者已经尝试将防御素作为佐剂引入疫苗研制中,凭借其免疫调节作用加强疫苗免疫效果<sup>[52, 53]</sup>。

## 4 总结

许多证据表明,人防御素无论是对包膜病毒还是对无包膜病毒感染都有显著抑制作用。尽管其抗病毒的作用机制尚不完全明确,且不同的防御素针对不同靶病毒的抑制效应也有较大差异。但是作为人体内的一种内源性多肽,防御素具有疗效突出、毒副作用小、微生物不易产生耐药等特点。现在已经有部分研究机构已经开始对其进行结构修饰改造并进入前期开发<sup>[54-56]</sup>。但防御素的半衰期较短,在体内易被蛋白酶降解;重组防御素空间结构不能正确折叠导致效价和生物利用度降低,以及在血清、高盐环境下抗病毒效力受影响等问题依然影响其开发运用。因此,认清防御素抗病毒机制以及其在机体免疫反应中的地位对其后续的开发和利用具有关键性的意义,也使人防御素有望被开发成为新一代的抗病毒药物。

## [参 考 文 献]

- [1] Patterson-Delafield J, Martinez RJ, Lehrer RI. Microbicidal cationic proteins in rabbit alveolar macrophages: a potential host defense mechanism. *Infect Immun*, 1980, 30(1): 180-92
- [2] Lehrer RI. Multispecific myeloid defensins. *Curr Opin Hematol*, 2007, 14(1): 16-21
- [3] Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(9): 710-20
- [4] Lehrer RI. Primate defensins. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2(9): 727-38
- [5] Szyk A, Wu Z, Tucker K, et al. Crystal structures of human  $\alpha$ -defensins HNP4, HD5, and HD6. *Protein Sci*, 2006, 15(12): 2749-60
- [6] Klotman ME, Chang TL. Defensins in innate antiviral immunity. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(6): 447-56
- [7] Liu L, Zhao C, Heng HH, et al. The human  $\beta$ -defensin-1 and  $\alpha$ -defensins are encoded by adjacent genes: two peptide families with differing disulfide topology share a common ancestry. *Genomics*, 1997, 43(3): 316-20
- [8] Agerberth B, Charo J, Werr J, et al. The human antimicrobial and chemotactic peptides LL-37 and  $\alpha$ -defensins are expressed by specific lymphocyte and monocyte populations. *Blood*, 2000, 96(9): 3086-93

- [9] Quayle AJ, Porter EM, Nussbaum AA, et al. Gene expression, immunolocalization, and secretion of human defensin-5 in human female reproductive tract. *Am J Pathol*, 1998, 152(5): 1247-58
- [10] Semple CA, Gautier P, Taylor K, et al. The changing of the guard: Molecular diversity and rapid evolution of beta-defensins. *Mol Divers*, 2006, 10(4): 575-84
- [11] Bevins CL, Martin-Porter E, Ganz T. Defensins and innate host defence of the gastrointestinal tract. *Gut*, 1999, 45(6): 911-5
- [12] Figueredo SM, Ouellette AJ. Inhibition of bactericidal activity is maintained in a mouse alpha-defensin precursor with proregion truncations. *Peptides*, 2010, 31(1): 9-15
- [13] Ganz T, Selsted ME, Szklarek D, et al. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils. *J Clin Invest*, 1985, 76(4): 1427-35
- [14] Ghosh D, Porter E, Shen B, et al. Paneth cell trypsin is the processing enzyme for human defensin-5. *Nat Immunol*, 2002, 3(6): 583-90
- [15] Wilson CL, Schmidt AP, Pirila E, et al. Differential Processing of alpha- and beta-Defensin Precursors by Matrix Metalloproteinase-7 (MMP-7). *J Biol Chem*, 2009, 284(13): 8301-11
- [16] Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, et al. Inducible and constitutive beta-defensins are differentially expressed in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 2003, 9(4): 215-23
- [17] Wehkamp J, Harder J, Wehkamp K, et al. NF-kappaB- and AP-1-mediated induction of human beta defensin-2 in intestinal epithelial cells by *Escherichia coli* Nissle 1917: a novel effect of a probiotic bacterium. *Infect Immun*, 2004, 72(10): 5750-8
- [18] Tesse R, Santoro N, Giordano P, et al. Association between defb1 gene haplotype and herpes viruses seroprevalence in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2009, 26(8): 573-82
- [19] Levy H, Raby BA, Lake S, et al. Association of defensin beta-1 gene polymorphisms with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 115(2): 252-8
- [20] Braida L, Boniotto M, Pontillo A, et al. A single-nucleotide polymorphism in the human beta-defensin 1 gene is associated with HIV-1 infection in Italian children. *Aids*, 2004, 18(11): 1598-600
- [21] Segat L, Brandao LA, Guimaraes RL, et al. Are defensin beta 1 gene polymorphisms associated with HIV infection and virus replication? *Aids*, 2009, 23(5): 647-9
- [22] Lehrer RI, Daher K, Ganz T, et al. Direct inactivation of viruses by MCP-1 and MCP-2, natural peptide antibiotics from rabbit leukocytes. *J Virol*, 1985, 54(2): 467-72
- [23] Ding J, Chou YY and Chang TL. Defensins in viral infections. *J Innate Immun*, 2009, 1(5): 413-20
- [24] Brogden KA. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3(3): 238-50
- [25] Lehrer RI, Barton A, Daher KA, et al. Interaction of human defensins with *Escherichia coli*. Mechanism of bactericidal activity. *J Clin Invest*, 1989, 84(2): 553-61
- [26] Porter E, Yang H, Yavagal S, et al. Distinct defensin profiles in *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* urethritis reveal novel epithelial cell-neutrophil interactions. *Infect Immun*, 2005, 73(8): 4823-33
- [27] Zapata W, Rodriguez B, Weber J, et al. Increased Levels of Human Beta-Defensins mRNA in Sexually HIV-1 Exposed But Uninfected Individuals. *Current HIV Research*, 2008, 6(6): 531-538
- [28] Yamasaki K, Gallo RL. Antimicrobial peptides in human skin disease. *Eur J Dermatol*, 2008, 18(1): 11-21
- [29] Chang TL, Vargas J, DelPortillo A, et al. Dual role of alpha-defensin-1 in anti-HIV-1 innate immunity. *J Clin Investigation*, 2005, 115(3): 765-73
- [30] Feng Z, Dubyak GR, Lederman MM, et al. Cutting edge: human beta defensin 3—a novel antagonist of the HIV-1 coreceptor CXCR4. *J Immunol*, 2006, 177(2): 782-6
- [31] Quinones-Mateu ME, Lederman MM, Feng ZM, et al. Human epithelial beta-defensins 2 and 3 inhibit HIV-1 replication. *Aids*, 2003, 17(16): F39-F48
- [32] Furci L, Sironi F, Tolazzi M, et al. Alpha-defensins block the early steps of HIV-1 infection: interference with the binding of gp120 to CD4. *Blood*, 2007, 109(7): 2928-35
- [33] Daher KA, Selsted ME, Lehrer RI. Direct inactivation of viruses by human granulocyte defensins. *J Virol*, 1986, 60(3): 1068-74
- [34] Hazrati E, Galen B, Lu W, et al. Human alpha- and beta-defensins block multiple steps in herpes simplex virus infection. *J Immunol*, 2006, 177(12): 8658-66
- [35] Sinha S, Cheshenko N, Lehrer RI, et al. NP-1, a rabbit alpha-defensin, prevents the entry and intercellular spread of herpes simplex virus type 2. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(2): 494-500
- [36] Scudiero O, Galdiero S, Cantisani M, et al. Novel synthetic, salt-resistant analogs of human beta-defensins 1 and 3 endowed with enhanced antimicrobial activity. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(6): 2312-22
- [37] Leikina E, Delanoe-Ayari H, Melikov K, et al. Carbohydrate-binding molecules inhibit viral fusion and entry by crosslinking membrane glycoproteins. *Nat Immunol*, 2005, 6(10): 995-1001
- [38] Salvatore M, Garcia-Sastre A, Ruchala P, et al. alpha-Defensin inhibits influenza virus replication by cell-mediated mechanism(s). *J Infect Dis*, 2007, 196(6): 835-43
- [39] Klotman ME, Rapista A, Teleshova N, et al. *Neisseria gonorrhoeae*-induced human defensins 5 and 6 increase HIV infectivity: role in enhanced transmission. *J Immunol*, 2008, 180(9): 6176-85
- [40] Tanabe H, Ouellette AJ, Cocco MJ, et al. Differential effects on human immunodeficiency virus type 1 replication by alpha-defensins with comparable bactericidal activities. *J Virol*, 2004, 78(21): 11622-31
- [41] Buck CB, Day PM, Thompson CD, et al. Human alpha-defensins block papillomavirus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(5): 1516-21
- [42] Smith JG and Nemerow GR. Mechanism of adenovirus neutralization by Human alpha-defensins. *Cell Host Microbe*, 2008, 3(1): 11-9

- [43] Nguyen EK, Nemerow GR and Smith JG. Direct evidence from single-cell analysis that human alpha-defensins block adenovirus uncoating to neutralize infection. *J Virol*, 2010, 84(8): 4041-9
- [44] Smith JG, Silvestry M, Lindert S, et al. Insight into the Mechanisms of Adenovirus Capsid Disassembly from Studies of Defensin Neutralization. *Plos Pathogens*, 2010, 6(6):
- [45] Dugan AS, Maginnis MS, Jordan JA, et al. Human alpha-defensins inhibit BK virus infection by aggregating virions and blocking binding to host cells. *J Biol Chem*, 2008, 283(45): 31125-32
- [46] Grigat J, Soruri A, Forssmann U, et al. Chemoattraction of macrophages, T lymphocytes, and mast cells is evolutionarily conserved within the human alpha-defensin family. *J Immunol*, 2007, 179(6): 3958-65
- [47] Klotman ME, Chang TL. Defensins in innate antiviral immunity. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(6): 447-56
- [48] Liu CY, Lin HC, Yu CT, et al. The concentration-dependent chemokine release and pro-apoptotic effects of neutrophil-derived alpha-defensin-1 on human bronchial and alveolar epithelial cells. *Life Sci*, 2007, 80(8): 749-58
- [49] Tecle T, Tripathi S, Hartshorn KL. Defensins and cathelicidins in lung immunity. *Innate Immunity*, 2010, 16(3): 151-9
- [50] Biragyn A, Ruffini PA, Leifer CA, et al. Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by beta-defensin 2. *Science*, 2002, 298(5595): 1025-9
- [51] Brogden KA, Heidari M, Sacco RE, et al. Defensin-induced adaptive immunity in mice and its potential in preventing periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol*, 2003, 18(2): 95-9
- [52] Ma XT, Xu B, An LL, et al. Vaccine with beta-defensin 2-transduced leukemic cells activates innate and adaptive immunity to elicit potent antileukemia responses. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 1169-76
- [53] Zhang HH, Yang XM, Xie QM, et al. The potent adjuvant effects of chicken beta-defensin-1 when genetically fused with infectious bursal disease virus VP2 gene. *Vet Immunol Immunop*, 2010, 136(1-2): 92-7
- [54] Wang AP, Wang S, Shen MQ, et al. High level expression and purification of bioactive human alpha-defensin 5 mature peptide in *Pichia pastoris*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 84(5): 877-84
- [55] Huang L, Ching CB, Jiang RR, et al. Production of bioactive human beta-defensin 5 and 6 in *Escherichia coli* by soluble fusion expression. *Protein Expr Purif*, 2008, 61(2): 168-74
- [56] Wang AP, Su YP, Wang S, et al. High efficiency preparation of bioactive human alpha-defensin 6 in *Escherichia coli* Origami (DE3) pLysS by soluble fusion expression. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 87(5): 1935-42