

DOI: 10.13376/j.cblls/2014126

文章编号: 1004-0374(2014)09-0883-08

· 专题: 动物疫病的免疫调控 ·

## 微囊泡与病毒感染

龚文杰, 谢晓明, 涂长春\*

(军事医学科学院军事兽医研究所, 长春 130122)

**摘要:** 微囊泡 (microvesicle) 是细胞释放到胞外的膜性囊泡, 其能将所含的蛋白质、脂类和核酸分子转运给其他细胞, 从而介导细胞间通讯。作为严格细胞内寄生的微生物, 病毒能利用微囊泡的生物合成和扩散途径进行病毒粒子的组装、出芽和传递, 同时将病毒蛋白或基因组包装入微囊泡中。这些病毒修饰的囊泡能介导病毒在机体内的感染和扩散, 或导致免疫细胞损伤以及耐受抗体的中和, 从而逃避宿主免疫应答, 引起持续性感染。重要的是, 微囊泡介导的病毒感染打破了对病毒在体内扩散和感染时必须有病毒粒子存在的传统认知。对微囊泡与病毒感染进行综述, 以促进对微囊泡介导病毒感染和抑制宿主免疫应答分子机制的了解。

**关键词:** 微囊泡; 病毒感染; 免疫逃逸

**中图分类号:** Q24; R373      **文献标志码:** A

## Microvesicles and viral infection

GONG Wen-Jie, XIE Xiao-Ming, TU Chang-Chun\*

(Institute of Military Veterinary, Academy of Military Medical Sciences, Changchun 130122, China)

**Abstract:** Microvesicles are membrane-enclosed extracellular vesicles shed from the plasma membrane or derived from the endosomal membrane of cells, which can mediate intercellular communication through transferring the vesicular components to recipient cells. As obligate intracellular parasites, viruses can take advantage of microvesicle biogenesis and dissemination pathways for viral assembly, budding and transmission. Meanwhile, viral proteins and/or genomic RNAs can be packaged into microvesicles, which can enhance viral infection, or cause destruction of immune cells and evade antibody-mediated neutralization. Therefore, virus-modified microvesicles can evade host immune system and facilitate the persistent infection of viruses. Importantly, progress on microvesicles-mediated viral infection has updated the traditional concept that viral dissemination and infections are based on the presence of virions. Here, we described several key aspects of how microvesicles are involved in viral infections in order to help understand the molecular mechanisms of microvesicles-mediated viral infection and immunosuppression.

**Key words:** microvesicles; virus infection; immune evasion

细胞可释放多种不同的膜性微囊泡, 包括从细胞表面脱落的微颗粒 (microparticle)、从胞内的内吞体膜释放的外泌小体 (exosome) 以及凋亡细胞产生的凋亡小体 (apoptotic bodies)<sup>[1-2]</sup>。这些释放到胞外的微囊泡可将其携带的膜受体和胞质成分转运至邻近或机体较远部位的受体细胞, 从而介导细胞间通讯<sup>[1-3]</sup>, 特别是外泌小体介导遗传信息在细胞之间的水平转移吸引了许多学者的兴趣<sup>[3]</sup>。有意思的是,

许多囊膜病毒可劫持微囊泡的生物合成和扩散途径以进行病毒粒子的组装和释放, 如反转录病毒和丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 等通过富集微囊泡生物合成途径的许多组分以进行感染性病毒粒

收稿日期: 2014-05-09

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(31130052);  
中国博士后科学基金项目(2013M532129)

\*通信作者: E-mail: changchun\_tu@hotmail.com

子的释放<sup>[4-5]</sup>。研究表明,病毒感染细胞释放的微囊泡可携带病毒组分和与病毒致病相关的细胞组分,这些病毒修饰的微囊泡能促进或阻断病毒感染以及通过旁路作用导致免疫功能失调<sup>[4-8]</sup>。近年来,对微囊泡结构与功能的研究促进了对病毒分子致病机制的认识,为此,本文就微囊泡与病毒感染的相关研究进展作一综述。

## 1 微囊泡及其生物学特性

除了胞内细胞器外,许多细胞也含有从细胞释放或脱落至微环境中的膜性胞外细胞器,即微囊泡,包括外泌小体、释放的微囊泡(微颗粒)和凋亡小体<sup>[1-2]</sup>,微囊泡的基本特性如表1所示。目前研究最多的微囊泡是来源于内吞体的大小为30~100 nm的外泌小体,该囊泡存在于多种体液中,包括尿液、血浆、腹水、唾液、乳汁、支气管肺泡灌洗液和羊水等<sup>[9]</sup>。外泌小体实质上是细胞释放的腔内囊泡(intraluminal vesicles, ILVs),由胞浆内的多囊泡体(multivesicular bodies, MVBs)向内出芽产生。MVB

的腔内囊泡可进入溶酶体途径发生降解或转运至细胞膜,经膜融合后向胞外释放腔内囊泡,即外泌小体(图1A)<sup>[10]</sup>。多种刺激和不同的细胞环境均可诱导外泌小体的形成,包括分化、活化、老化、应激、细胞因子刺激、癌基因表达和病毒感染等<sup>[1]</sup>。外泌小体生物合成系统——转运必需的内吞体分选复合物(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)在泛素化物质分选进入和形成腔内囊泡的过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。因此,外泌小体富含ESCRT组分(如TSG101和Alix),但ESCRT蛋白在外泌小体形成中所起的作用尚不清楚。去除ESCRT-0复合物中参与物质转运的Hrs蛋白可降低受卵白蛋白和钙离子载体刺激的DC细胞的外泌小体产生量<sup>[11]</sup>。然而,在少突胶质细胞中,外泌小体的释放不依赖ESCRT,而是通过脂质神经酰胺来完成。神经酰胺被认为能形成簇状的膜性微区域和诱导膜的弯曲,从而促进脂质双层的内化<sup>[12]</sup>。外泌小体也富含其他脂质物质,包括鞘磷脂、胆固醇、糖脂GM3和脂筏蛋白(小窝蛋白和flotillin)<sup>[13-14]</sup>。

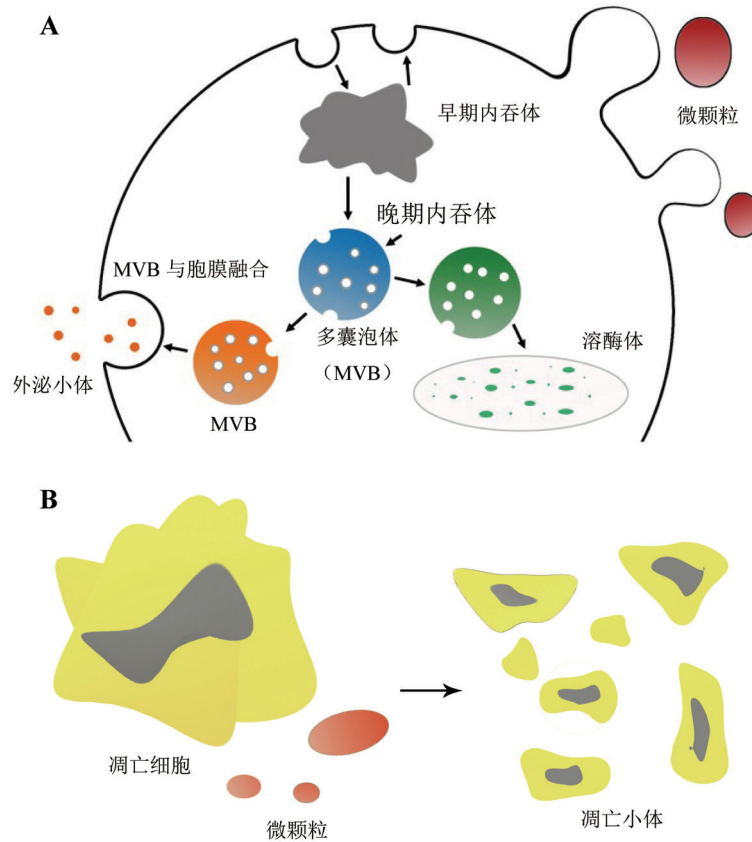
表1 微囊泡的种类及其特性

	外泌小体	微颗粒	凋亡小体
大小	30~100 nm	100~1 000 nm	1~5 μm
浮密度	1.10~1.21 g/mL	1.16 g/mL	1.24~1.28 g/mL
形状	杯状	形态各异	形态各异
脂质组成	胆固醇、神经酰胺、鞘磷脂,少量磷脂酰丝氨酸外化	胆固醇,大量磷脂酰丝氨酸外化	大量磷脂酰丝氨酸外化
蛋白质标志物	ALIX、TSG101、HSC70、CD63、CD81、CD9	选择素、整合素、CD40、金属蛋白酶	组氨酸
来源	MVB	细胞膜	-
胞外释放方式	持续的和可调节的	可调节的	可调节的
组成	蛋白质、mRNA、miRNA	蛋白质、mRNA、miRNA	蛋白质、DNA、mRNA、miRNA

微颗粒是含有不同蛋白质组分的从胞膜释放的微囊泡(图1A),其大小为100 nm~1 μm。微颗粒从细胞表面释放是一个可调节的过程,可被感染、活化、转化和应激等细胞刺激所诱导。微颗粒已被证实含有蛋白质、RNAs和miRNAs<sup>[15]</sup>。与外泌小体相似,微颗粒含有富含胆固醇的微区域或脂筏,常见的脂筏相关蛋白flotillin-1和组织因子<sup>[16]</sup>。微颗粒也可能含有特异的整合素、细胞因子、趋化因子、金属蛋白酶和暴露于细胞膜外叶的大量磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)<sup>[17]</sup>。外化的PS能富集血液中的凝血因子使其局部浓度达到凝血的水

平,PS还能增加组织因子的促凝活性,因此,微颗粒具有促凝血的特性<sup>[17]</sup>。

凋亡小体是细胞在程序性死亡晚期释放的膜性囊泡(图1B)。凋亡小体较大,直径在1~5 μm之间,含有暴露的磷脂酰丝氨酸和许多细胞残留物,包括片段化DNA和细胞器<sup>[18]</sup>。凋亡小体也能在细胞之间实现物质转运,如原癌基因和DNA,并具有抗原递呈和免疫抑制作用<sup>[19-21]</sup>。由于缺少有效的分离方法,与其他微囊泡相比,关于凋亡小体的研究较少,但其可能参与了重要的细胞间通讯。然而,凋亡小体介导的细胞通讯可能有别于外泌小体和微颗



A: 外泌小体和微颗粒的释放。外泌小体来源于内吞体膜, 其向内出芽形成腔内囊泡ILVs, 含有ILVs的多囊泡体MVB通过与胞膜融合释放ILVs, 即为外泌小体, MVB也可进入溶酶体途径发生降解; 微颗粒是细胞受到刺激后从胞膜释放的胞外囊泡。B: 皱缩的凋亡细胞产生微颗粒和凋亡小体, 后者是降解的凋亡细胞胞核和胞质组分的残留物。

图1 微囊泡胞外释放模式图<sup>[14]</sup>

粒, 因此, 有必要对其进行深入研究。

作为细胞间通讯的信使, 微囊泡从供体细胞释放后进入邻近的细胞, 或经体液循环到达机体远端的受体细胞以进行物质转运。研究证实, 微囊泡参与了癌症生物学和疾病发生的多个过程, 包括转化、肿瘤生长、肿瘤微环境重塑、侵袭、血管发生、细胞迁移、免疫逃逸和分化等<sup>[22-29]</sup>。微囊泡也在抗原递呈、神经通讯、凝血、病原传递、精子成熟和胎儿发育中发挥重要作用<sup>[30-35]</sup>。囊泡化也可去除细胞内的不必要蛋白质等废物, 并以此作为细胞的保护性反应以调节过度活跃的信号复合物, 特别是那些原癌蛋白诱导的复合物<sup>[36]</sup>。微囊泡通过与受体细胞互作或经膜融合后转运物质分子而发挥生物学作用。微囊泡能水平转移功能蛋白、mRNA/miRNA、DNA、原癌基因及其受体, 也能进行感染性病原的传递, 如朊病毒和人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)<sup>[33-34]</sup>。微囊泡一个独特的特征是其一次能将多个蛋白质、核酸或脂类等效应分

子转移至其他细胞<sup>[37]</sup>。有意思的是, 微囊泡携带的许多分子参与了病毒的细胞结合和入侵, 正如许多病毒通过内吞途径进入细胞一样, 微囊泡也可以采用相同的策略进入细胞<sup>[2]</sup>。为此, 深入研究微囊泡与病毒之间的关系有助于病毒致病机制的解析和新型抗病毒药物以及疫苗的研发。

## 2 微囊泡促进病毒感染与扩散

作为严格细胞内寄生的生物体, 病毒的生命周期不仅完全依赖于宿主细胞的生物合成系统, 而且还利用宿主的细胞间通讯系统来进行病毒扩散以逃避免疫监视, 如细胞间病毒传递可通过细胞-细胞导管或纳米通道来完成<sup>[38]</sup>。然而, 最新的研究发现, 病毒还可利用另一机制来实现其在机体内的扩散和感染——“特洛伊木马-外泌小体假说”。该假说认为, 反转录病毒可利用外泌小体的生物合成系统进行感染性病毒粒子的组装和释放, 并劫持介导细胞间物质转运的外泌小体交换系统进行病毒粒子的

扩散；同时，由于反转录病毒基因 RNA 或病毒粒子被包装入外泌小体中，其能介导病毒感染而不依赖于病毒 Env 蛋白与受体的相互作用<sup>[39]</sup>。携带有来源细胞特定抗原的微囊泡不仅能与其靶细胞特异性结合，同时具有极低的免疫原性，病毒可利用微囊泡在宿主细胞之间自由穿梭和精确地在特定细胞之间进行物质转运的特性，将自身蛋白质和（或）基因组 RNA 甚至病毒粒子掺入微囊泡中，通过微囊泡将病毒组分转运至机体各处并逃避宿主的免疫监视，从而导致病毒持续性感染的发生，这是目前发现的病毒免疫逃逸的又一新的途径<sup>[4-5,39]</sup>。

反转录病毒（如 HIV-1）和 HCV 等病毒在感染细胞中组装和出芽时，可将其基因组 RNA、囊膜蛋白或病毒粒子包装入外泌小体中，这些病毒修饰的微囊泡和病毒粒子在生化组成上非常相似<sup>[8]</sup>。HIV-1 感染细胞释放的外泌小体和微囊泡可促进病毒对巨噬细胞的感染，该过程还可促进病毒进入天然免疫系统和适应性免疫系统的细胞，这也能部分解释 HIV-1 能部分耐受某些中和抗体的中和<sup>[38]</sup>。外泌小体表面含有许多细胞黏附分子，如 HLA-DRA1、HLA-DRB1、CD14、半乳糖素-3 (galectin-3)、玻连蛋白 (vitronectin) 和纤连蛋白 (fibronectin)，其中半乳糖素-3 和纤连蛋白的存在可提高 HIV-1 入侵和感染效率约 20 倍，因此，HIV-1 能利用外泌小体的表面特性加速子代病毒的感染和掩护病毒逃避免疫监视<sup>[38]</sup>。此外，HIV-1 感染细胞释放的外泌小体也携带有病毒辅助受体（趋化因子受体 CCR5 和 CXCR4），并将其转移至不含这些受体的细胞以提高其对 HIV-1 的易感性，从而促进病毒感染<sup>[40-41]</sup>。

Ramakrishnaiah 等<sup>[42]</sup>报道，感染 HCV 的人肝癌细胞 Huh7.5.1 释放到培养上清中的外泌小体含有病毒全长基因组 RNA、病毒蛋白和粒子，这些 HCV 修饰的外泌小体能将病毒传递给正常的 Huh7.5.1 细胞，从而引起持续性感染；含有 HCV 亚基因组复制子 (subgenomic replicon, SGR) 的 Huh-7.5.1 细胞产生的外泌小体也含有病毒亚基因组 RNA，它也能介导病毒亚基因组 RNA 在细胞之间的传递<sup>[42]</sup>。此外，在 HCV 患者血清中也检测到含有病毒基因 RNA 以及囊膜蛋白 E1 和 E2 的外泌小体，同时携带有病毒辅助受体 CD81-E2 复合物的外泌小体甚至在中和抗体存在时也具有感染性，表明 HCV- 外泌小体介导的病毒传递能耐受抗体的中和<sup>[43]</sup>。携带有病毒基因组 RNA 的外泌小体除了介

导 HCV 在细胞之间传递外，还能诱导免疫细胞活化，即 HCV- 或 HCV SGR- 外泌小体通过将病毒 RNA 转运至类浆细胞 DC 细胞以刺激其产生 IFN- $\alpha$ 。外泌小体介导 HCV 基因组 RNA 在细胞之间的转移需要 ESCRT 蛋白和具有 RNA 结合能力的膜联蛋白 Annexin II 的参与<sup>[44]</sup>。因此，在感染细胞内病毒基因组 RNA 包装入囊泡中，并以外泌小体形式进行释放和扩散，是病毒逃避宿主免疫应答的一种重要策略，在病毒致病和持续性感染中发挥重要作用。

携带有病毒辅助受体或病毒蛋白的微囊泡可通过致敏病毒靶细胞以促进病毒感染。人巨细胞病毒 CMV 感染细胞产生的微囊泡含有促进病毒捕捉和内化的 C- 型凝集素家族分子，该分子与病毒糖蛋白 B 在微囊泡形成复合物，该复合物通过微囊泡扩散至其他细胞，从而提高这些细胞对 CMV 的易感性<sup>[45]</sup>。单纯疱疹病毒 HSV 感染的细胞也能释放微囊泡，起先被称为 L- 颗粒，这些颗粒含有病毒囊膜蛋白和糖蛋白，与 HSV 病毒粒子相似，也含有许多细胞因子。L- 颗粒不含有病毒衣壳和 DNA，因而不具有感染性，但其携带的某些病毒囊膜蛋白是极早期转录因子，这些蛋白能促进随后进入细胞的病毒粒子的快速转录活化，从而促进病毒的感染<sup>[46]</sup>。此外，L- 颗粒能增强转染的病毒 DNA 形成感染性噬斑的能力<sup>[47]</sup>。

### 3 微囊泡介导病毒免疫耐受和逃逸

#### 3.1 人类免疫缺陷病毒

CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的大量凋亡是 HIV-1 感染的标志性病理变化。最近的研究发现，HIV-1 Nef 蛋白以外泌小体形式从细胞释放，释放的 Nef- 外泌小体能诱导 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的凋亡<sup>[48]</sup>。同时，HIV-1 Nef 蛋白的表达可改变细胞的内吞体系统，主要表现为该系统的内吞体、溶酶体和 MVB 的产生增加，从而诱导病毒感染细胞和 Nef 蛋白过表达的细胞产生和释放大量 Nef- 外泌小体，该囊泡也能在感染患者的血清中检测到<sup>[48-51]</sup>。因此，外泌小体中的 Nef 蛋白通过促进 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的凋亡在 HIV 致病中发挥作用。Nef 蛋白也可能通过纳米管通道参与的接触依赖性机制从感染的巨噬细胞转运至邻近未感染的 B 淋巴细胞<sup>[38]</sup>。Nef 蛋白或其他病毒成分通过胞内和胞外囊泡进行转移可能是 HIV 免疫逃逸的一种重要机制。

微囊泡除了在病毒感染和免疫逃逸中发挥作用外, 其也参与抗病毒反应。据 Khatua 等<sup>[52]</sup>报道, 抗 HIV-1 蛋白 - 人胞苷脱氨酶 APOBEC3G (A3G) 以外泌小体形式释放到细胞外, 含有该囊泡的受体细胞能耐受 HIV-1 的感染, 然而 A3G 对 HIV-1 复制的抑制不依赖其胞苷脱氨酶活性, 同时 A3G 的抗病毒活性能被 HIV-1 Vif 蛋白所抑制。更有趣的是, 从正常 CD8<sup>+</sup> T 细胞培养上清纯化的外泌小体能抑制依赖于 CCR5 和 CXCR4 的 HIV-1 复制, 这些抗病毒的外泌小体能特异性抑制急性和慢性感染期 HIV-1 的转录, 同时外泌小体介导的抗病毒活性无细胞毒性<sup>[53]</sup>。

### 3.2 EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)

EBV 晚期膜蛋白 1 (LMP1), 即病毒主要癌蛋白, 在转化的 B 细胞和体外培养的表皮细胞以外泌小体形式释放, LMP1 与四跨膜蛋白 CD63 互作对 LMP1 转运至 MVB 非常重要, 并可能参与 LMP1-外泌小体释放<sup>[54]</sup>。LMP1 是 EBV 诱导 B 细胞永生化和鼠成纤维细胞转化所必需的<sup>[55-56]</sup>。同时, 在鼻咽癌 (NPC) 患者血清和 EBV 感染的鼻咽癌细胞培养上清中也检测到含量较高的 LMP1, 其也能从表达该蛋白的表皮细胞系释放<sup>[57]</sup>。未感染的靶细胞摄入 LMP1-外泌小体后, 可诱导受体细胞的生长刺激信号通路。这些结果表明, 通过 LMP1-外泌小体转移, EBV 能调节邻近细胞的生长特性, 这可能在 NPC 致病过程中扮演重要角色。非常有意思的是, LMP1 表达能改变外泌小体的组成和提高外泌小体中两种重要信号分子——磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) 和表皮生长因子受体 (EGFR) 在肿瘤中的表达<sup>[58]</sup>。纯化的 LMP1 和 B 细胞释放的 LMP1-外泌小体都能抑制 T 细胞增殖和 NK 细胞毒性, 表明 LMP1 能影响未感染的受体靶细胞<sup>[59]</sup>。除了携带有 LMP1 外, 来源于 EBV 感染的鼻咽癌细胞的外泌小体含有免疫逃逸蛋白半乳糖素 9 (galectin 9), 携带该蛋白的微囊泡能诱导 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的凋亡, 从而表现出免疫抑制活性。进一步研究发现, 半乳糖素 9 能与 T 淋巴细胞黏蛋白-3 (Tim-3) 相互作用, 从而激活细胞凋亡内源途径导致其凋亡<sup>[60]</sup>。EBV 感染细胞释放的含有 LMP1 和其他病毒诱导蛋白的外泌小体可能对病毒致病非常重要, 同时也可能促进肿瘤的生长。除了 LMP1 和免疫调节蛋白半乳糖素 9, EBV 修饰的外泌小体也能将病毒编码的 miRNA 转移给未感染的受体细胞, 这些递呈给靶

细胞的 miRNA 分子能特异性下调靶基因的表达<sup>[61-62]</sup>。此外, EBV 患者的未感染 B 细胞含有病毒 miRNA, 同时研究人员还发现 NPC 外泌小体所含的某些病毒 miRNA 的量高于其胞内水平<sup>[61-62]</sup>, 表明 miRNA 可从感染细胞选择性和特异性地释放, 并在体内进行转移。因此, 外泌小体是 EBV 及其诱导的肿瘤细胞逃避免疫监视的一种策略。

### 3.3 单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)

HSV 也能利用外泌小体途径进行免疫逃逸, 这一策略是病毒利用囊膜糖蛋白 gB 劫持 MHC-II 分子加工途径来完成的<sup>[46]</sup>。抗原递呈细胞 (APC) 通常将 MHC-II 表面受体 HLA-DR 分选至 MHC-II 区室进行加工, 该途径主要是将抗原递呈给免疫系统以刺激或抑制 T 细胞反应, 从而刺激 B 细胞产生抗原特异性抗体。HSV-1 gB 蛋白通过与 HLA-DR 结合, 使其从细胞表面转移至外泌小体释放途径, 从而改变细胞抗原递呈系统以阻止进一步的抗原递呈。此外, 以 L-颗粒形式释放入宿主免疫微环境中的 gB-HLA-DR 复合物可促进病毒对免疫攻击的耐受, 甚至在某些情况下使旁路 T 细胞产生耐受或功能丧失<sup>[46]</sup>。基于目前对微囊泡功能的了解, HSV L-颗粒通过提高病毒粒子的感染性和提供免疫逃逸能力而可能在感染宿主的致病过程中发挥重要作用。

### 3.4 人甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)

根据是否含有脂质双层囊膜可以将病毒分为有囊膜和无囊膜两种病毒。对于前者, 囊膜对病毒的稳定性、传递和免疫识别具有重要作用。对于无囊膜的病毒, 囊膜似乎没有作用, 但最新的研究发现无囊膜病毒同样可以利用囊膜维持其感染。HAV 为无囊膜的单股正链 RNA 病毒, 属于小 RNA 病毒科成员。据报道, HAV 从感染细胞释放时包裹一层宿主细胞膜, 该囊膜可保护病毒不被抗体中和。这些含有囊膜的 HAV (enveloped HAV, eHAV) 与介导细胞间通讯的外泌小体相似, 它们具有感染性, 对氯仿提取非常敏感, 并能在感染患者血液中循环<sup>[63]</sup>。eHAV 的形成依赖于 ESCRT 蛋白 VPS4B 和 ALIX 的参与, HAV 对宿主细胞膜的劫持可逃避抗体介导的中和作用, 从而促进病毒在肝脏中的传递<sup>[63-64]</sup>。然而, eHAV 感染后抗衣壳蛋白抗体可抑制病毒复制, 这也部分解释了 HAV 感染可进行暴露后预防<sup>[63-64]</sup>。HAV 对细胞膜的劫持使得“囊膜病毒”与“无囊膜病毒”之间的界限变得模糊, 并对病毒

从感染细胞出芽和逃避宿主的免疫反应具有重要意义。

肝炎病毒中除了 HCV 和 HAV 可利用细胞间囊泡转运系统外, HBV 感染会导致含有病毒表面抗原的非感染性亚病毒颗粒的大量释放, 这些圆形的病毒空壳在形态和大小上与外泌小体相似<sup>[65]</sup>。亚病毒粒子在患者血清中含量较高, 其可达到感染性病毒粒子的 1 000~100 000 倍, 大量亚病毒粒子能分散免疫系统对少量感染性病毒粒子的监视, 推测 HBV 亚病毒颗粒可能在病毒免疫逃逸中发挥作用<sup>[65]</sup>。

#### 4 微囊泡参与病毒抗原递呈

作为细胞间物质交换的运载工具, 外泌小体除了转运膜性受体和 RNA 分子等物质外, 还可以进行无细胞抗原递呈以调节机体的免疫反应。DC 细胞来源的含有 MHC I 类分子限制性多肽的外泌小体能活化相应的 CD8<sup>+</sup> T 细胞克隆, 同时外泌小体也可在 DC 细胞之间进行 MHC-多肽复合物的转移, 从而增加含有抗原多肽的抗原递呈细胞 (APCs) 的数目<sup>[66]</sup>。与 DC 细胞来源的外泌小体一样, 黑色素瘤等肿瘤细胞产生的外泌小体也含有 MHC I 类分子, 该微囊泡能将肿瘤细胞抗原递呈给 DC 细胞<sup>[67]</sup>。最近的研究发现, 外泌小体也可介导病毒蛋白抗原的递呈。Testa 等<sup>[68]</sup>报道, 外泌小体参与了流感病毒血凝素蛋白 (HA) H-2M 依赖型表位的 MHC II 类分子递呈。掺入外泌小体的 HA 蛋白是完整的, 且其胞外区域位于外泌小体的表面, 由于其与胞膜唾液酸结合可介导流感病毒的细胞吸附, 其受体结合活性使外泌小体更易与细胞结合, 从而提高了抗原递呈的效率。

综上所述, 病毒感染细胞产生的微囊泡在病毒持续性感染和致病中扮演重要角色。病毒可劫持细胞囊泡化系统进行病毒粒子的组装、出芽和释放, 并通过细胞间囊泡转运系统实现病毒在细胞间的传递或在机体中长距离地扩散以逃避宿主免疫监视; 同时, 微囊泡通过水平转移携带的效应分子导致受体细胞的表现遗传发生改变, 从而为病毒持续性感染和致病创造条件。尽管目前对微囊泡生物学特性及其功能, 尤其在病毒感染中的作用的理 解还处在初步阶段, 但是随着对微囊泡介导病毒感染研究的逐步深入, 可以让人们全新地认识病毒感染机制, 即病毒在机体内的扩散和感染不一定需要病毒粒子的参与, 这将对医学或动物病毒致病机制的阐释产生重要影响。

#### [参 考 文 献]

- [1] Meckes DG, Raab-Traub N. Microvesicles and viral infection. *J Virol*, 2011, 85(24): 1244-54
- [2] György B, Szabó TG, Pásztói M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(16): 2667-88
- [3] Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6): 654-9
- [4] Nguyen DG, Booth A, Gould S, et al. Evidence that HIV budding in primary macrophages occurs through the exosome release pathway. *J Biol Chem*, 2003, 278(52): 52347-54
- [5] Ariumi Y, Kuroki M, Maki M, et al. The ESCRT system is required for hepatitis C virus production. *PLoS One*, 2011, 6(1): e14517
- [6] Wurdinger T, Gatson NN, Balaj L, et al. Extracellular vesicles and their convergence with viral pathways. *Adv Virol*, 2012, 2012: 767694
- [7] Izquierdo-Useros N, Naranjo-Gómez M, Erkizia I, et al. HIV and mature dendritic cells: Trojan exosomes riding the trojan horse? *PLoS Pathogens*, 2010, 6(3): e1000740
- [8] Izquierdo-Useros N, Puertas MC, Borràs FE, et al. Exosomes and retroviruses: the chicken or the egg? *Cell Microbiol*, 2011, 13(1): 10-7
- [9] Simpson R, Jensen SS, Lim JW. Proteomic profiling of exosomes: current perspectives. *Proteomics*, 2008, 8(19): 4083-99
- [10] Williams J, Urbé S. The emerging shape of the ESCRT machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(5): 355-68
- [11] Tamai K, TanaKa N, NaKano T, et al. Exosome secretion of dendritic cells is regulated by Hrs, an ESCRT-0 protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 399(3): 384-90
- [12] Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*, 2008, 319(5867): 1244-7
- [13] Staubach S, Razawi H, Hanisch FG. Proteomics of MUC1-containing lipid rafts from plasma membranes and exosomes of human breast carcinoma cells MCF-7. *Proteomics*, 2009, 9(10): 2830-5
- [14] Mathivanan S, Ji H, Simpson R. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *Proteomics*, 2010, 73(10): 1907-20
- [15] Camussi G, Deregibus MC, Bruno S. Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication. *Kidney Int*, 2010, 78(9): 838-48
- [16] Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood*, 2005, 106(5): 1604-11
- [17] Dolo V, D'AScenzo S, Giusti I, et al. Shedding of membrane vesicles by tumor and endothelial cells. *Ital J Anat Embryol*, 2005, 110(2 Suppl 1): 127-33
- [18] Hristov M, Erl W, Linder S, et al. Apoptotic bodies from endothelial cells enhance the number and initiate the

- differentiation of human endothelial progenitor cells *in vitro*. *Blood*, 2004, 104(9): 2761-6
- [19] Bellone M, Iezzi G, Rovere P, et al. Processing of engulfed apoptotic bodies yields T cell epitopes. *J Immunol*, 1997, 159(11): 5391-9
- [20] Bergsmedh A, Szeles A, HenriKsson M, et al. Horizontal transfer of oncogenes by uptake of apoptotic bodies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(11): 6407-11
- [21] Cocca BA, Cline AM, Radic MZ. Blebs and apoptotic bodies are B cell autoantigens. *J Immunol*, 2002, 169(1): 159-66
- [22] Antonyak MA, Li B, Boroughs LK, et al. Cancer cell-derived microvesicles induce transformation by transferring tissue transglutaminase and fibronectin to recipient cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(12): 4852-7
- [23] Keller S, König AK, Marmé F, et al. Systemic presence and tumor-growth promoting effect of ovarian carcinoma released exosomes. *Cancer Lett*, 2009, 278(1): 73-81
- [24] Taylor DD, Gercel-Taylor C. Exosomes/microvesicles: mediators of cancer-associated immunosuppressive microenvironments. *Semin Immunopathol*, 2011, 33(5): 441-54
- [25] Higginbotham JN, Demory Beckler M, Gephart JD, et al. Amphiregulin exosomes increase cancer cell invasion. *Curr Biol*, 2011, 21(9): 779-86
- [26] Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer*, 2005, 113(5): 752-60
- [27] Park JE, Tan HS, Datta A, et al. Hypoxic tumor cell modulates its microenvironment to enhance angiogenic and metastatic potential by secretion of proteins and exosomes. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(6): 1085-99
- [28] They C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(8): 581-93
- [29] Valenti R, Huber U, Filipazzi P, et al. Human tumor-released microvesicles promote the differentiation of myeloid cells with transforming growth factor- $\beta$ -mediated suppressive activity on T lymphocytes. *Cancer Res*, 2006, 66(18): 9290-8
- [30] Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*, 1996, 183(3): 1161-72
- [31] Fauré J, Lachenal G, Court M, et al. Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Mol Cell Neurosci*, 2006, 31(4): 642-8
- [32] Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, et al. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood*, 2005, 106(5): 1604-11
- [33] Fevrier B, Vilette D, Archer F, et al. Cells release prions in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(26): 9683-8
- [34] Izquierdo-Useros N, Naranjo-Gómez, M, Archer J, et al. Capture and transfer of HIV-1 particles by mature dendritic cells converges with the exosome-dissemination pathway. *Blood*, 2009, 113(12): 2723-41
- [35] Sullivan R, Saez F, Girouard J, et al. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood Cells Mol Dis*, 2005, 35(1): 1-10
- [36] Abide Hussein MN, Boing AN, Sturk A, et al. Inhibition of microparticle release triggers endothelial cell apoptosis and detachment. *Thromb Haemost*, 2007, 98(5): 1096-107
- [37] Al-Nedawi K, Meehan B, Kerbel S, et al. Endothelial expression of autocrine VEGF upon the uptake of tumor-derived microvesicles containing oncogenic EGFR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(10): 3794-9
- [38] Kadiu I, Narayanasamy P, Dash PK, et al. Biochemical and biologic characterization of exosomes and microvesicles as facilitators of HIV-1 infection in macrophages. *J Immunol*, 2012, 189: 744-54
- [39] Gould S, Booth AM, Hildreth JEK. The trojan exosome hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(9): 10592-7
- [40] Mack M, Kleinschmidt A, Brühl H, et al. Transfer of the chemokine receptor CCR5 between cells by membrane-derived microparticles: a mechanism for cellular human immunodeficiency virus 1 infection. *Nat Med*, 2000, 6(7): 769-75
- [41] Rozmyslowicz T, Majka M, Kijowski J, et al. Platelet- and megakaryocyte-derived microparticles transfer CXCR4 receptor to CXCR4-null cells and make them susceptible to infection by X4-HIV. *AIDS*, 2003, 17(1): 33-42
- [42] Ramakrishnaiah V, Thumann C, Fofana I, et al. Exosome-mediated transmission of hepatitis C virus between human hepatoma Huh7.5 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(32): 13109-13
- [43] Masciopinto F, Giovani C, Campagnoli S, et al. Association of hepatitis C virus envelope proteins with exosomes. *Eur J Immunol*, 2004, 34(10): 2834-42
- [44] Dreux M, Garaigorta U, Boyd B, et al. Short range exosomal transfer of viral RNA from infected cells to plasmacytoid dendritic cells triggers innate immunity. *Cell Host Microbe*, 2012, 12(4): 558-70
- [45] Plazolles N, Humbert JM, Vachot L, et al. Pivotal advance: the promotion of soluble DC-SIGN release by inflammatory signals and its enhancement of cytomegalovirus-mediated cis-infection of myeloid dendritic cells. *J Leucocyte Biol*, 2011, 89(3): 329-42
- [46] Temme S, Eis-Hübinger M, McLellan AD, et al. The herpes-simplex virus-1 encoded glycoprotein B diverts HLA-DR into the exosome pathway. *J Immunol*, 2010, 184(1): 236-43
- [47] Dargan DJ, Subak-Sharpe JH. The effect of herpes simplex virus type 1 L-particles on virus entry, replication, and the infectivity of naked herpesvirus DNA. *Virology*, 1997, 239(2): 378-88
- [48] Lenassi M, Cagney G, Liao M, et al. HIV Nef is secreted in exosomes and triggers apoptosis in bystander CD4<sup>+</sup> T cells. *Traffic*, 2010, 11(1): 110-22
- [49] Sanfridson A, Hester S, Doyle C. Nef proteins encoded by human and simian immunodeficiency viruses induce the accumulation of endosomes and lysosomes in human T

- cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(3): 873-8
- [50] Stumptner-Cuvelette P, Jouve M, Helft J, et al. Human immunodeficiency virus-1 Nef expression induces intracellular accumulation of multivesicular bodies and major histocompatibility complex class II complexes: potential role of phosphatidylinositol 3-kinase. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(12): 4857-70
- [51] James CO, Huang HB, Khan M, et al. Extracellular Nef protein targets CD4<sup>+</sup> T cells for apoptosis by interacting with CXCR4 surface receptors. *J Virol*, 2004, 78(6): 3099-109
- [52] Khatua AK, Taylor HE, Hildreth JEK, et al. Exosomes packaging APOBEC3G confer human immunodeficiency virus resistance to recipient cells. *J Virol*, 2009, 83(2): 512-21
- [53] Tumne A, Prasad VS, Chen Y, et al. Noncytotoxic suppression of human immunodeficiency virus type 1 transcription by exosomes secreted from CD8<sup>+</sup> T cells. *J Virol*, 2009, 83(9): 4354-64
- [54] Verweij FJ, van Eijndhoven MA, Hopmans ES, et al. LMP1 association with CD63 in endosomes and secretion via exosomes limits constitutive NF- $\kappa$ B activation. *EMBO J*, 2011, 30(11): 2115-9
- [55] Kaye KM, Izumi KM, Kieff E. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(19): 9150-4
- [56] Wang DD, Liebowitz D, Kieff E. An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells. *Cell*, 1995, 43(3 Pt 2): 831-40
- [57] Houali K, Wang X, Shimizu Y, et al. A new diagnostic marker for secreted Epstein-Barr virus encoded LMP1 and BARF1 oncoproteins in the serum and saliva of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(17): 4993-5000
- [58] Ceccarelli S, Visoco U, Raffa S, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 promotes concentration in multivesicular bodies of fibroblast growth factor 2 and its release through exosomes. *Int J Cancer*, 2007, 121(7): 1494-506
- [59] Dukers DF, Meij P, Vervoort MB, et al. Direct immunosuppressive effects of EBV-encoded latent membrane protein 1. *J Immunol*, 2000, 165(2): 663-70
- [60] Klibi J, Niki T, Riedel A, et al. Blood diffusion and Th1-suppressive effects of galectin-9-containing exosomes released by Epstein-Barr virus-infected nasopharyngeal carcinoma cells. *Blood*, 2009, 113(9): 1957-66
- [61] Pegtel DM, Cosmopoulos K, David A, et al. Functional delivery of viral miRNAs via exosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(14): 6328-33
- [62] Meckes DG, Shair KHY, Marquitz AR, et al. Human tumor virus utilizes exosomes for intercellular communication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(47): 20370-5
- [63] Feng ZD, Hensley L, Mcknight KL, et al. A pathogenic picornavirus acquires an envelope by hijacking cellular membranes. *Nature*, 2013, 496(7445): 367-71
- [64] Ramakrishnaiah V, van der Laan LJ. Hepatitis virus hijacks shuttle: exosome-like vehicles provide protection against neutralizing antibodies. *Hepatology*, 2014, 59(6): 2416-8
- [65] Chai N, Chang HE, Nicolas E, et al. Properties of subviral particles of hepatitis B virus. *J Virol*, 2008, 82(16): 7812-7
- [66] Thery C, Regnault A, Garin J, et al. Molecular characterization of dendritic cell-derived exosome. Selective accumulation of the heat-shock protein hsc73. *J Cell Biol*, 1999, 147(3): 599-610
- [67] Wolfer J. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. *Nat Med*, 2001, 7(3): 297-303
- [68] Testa JS, Apcher GS, Comber JD, et al. Exosome-driven antigen transfer for MHC class II presentation facilitated by the receptor binding activity of influenza hemagglutinin. *J Immunol*, 2010, 185(11): 6608-16