



α 疱疹病毒 UL24 蛋白特性与功能研究进展

牛静轶, 李艺璇, 叶超*

西南大学动物医学院 动物健康与动物性食品安全国际合作联合实验室, 重庆 400715

牛静轶, 李艺璇, 叶超. α 疱疹病毒 UL24 蛋白特性与功能研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(1): 30-41.

NIU Jingyi, LI Yixuan, YE Chao. Advances in the characterization and function of UL24 of α -herpesviruses[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(1): 30-41.

摘要: α 疱疹病毒是一大类具有包膜的双链 DNA 病毒, 具有嗜神经性感染和潜伏感染的特性, 对人畜的健康具有较大威胁。 α 疱疹病毒基因组能够编码多种蛋白, 其中 UL24 是 α 疱疹病毒重要的毒力基因之一, 能够编码一种高度保守的蛋白, 在调控病毒感染致病方面具有重要的生物学作用。本文主要对 UL24 基因及其编码蛋白基本特性, UL24 蛋白在 α 疱疹病毒的组装和复制、感染和致病以及抑制宿主天然免疫 3 个方面的调控功能进行了梳理, 为深入理解 α 疱疹病毒蛋白的功能, 以及进一步防控 α 疱疹病毒感染提供理论参考。

关键词: α 疱疹病毒; UL24 蛋白; 生物学功能

Advances in the characterization and function of UL24 of α -herpesviruses

NIU Jingyi, LI Yixuan, YE Chao*

Joint International Research Laboratory of Animal Health and Animal Food Safety, College of Veterinary Medicine, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The α -herpesviruses are a large class of enveloped double-stranded DNA viruses

资助项目: 中央高校基本科研业务费(SWU-KT22016); 国家自然科学基金(31902256); 国家生猪技术创新中心项目(NCTIP-XD/C17); 重庆生猪产业技术体系项目(20211105)

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (SWU-KT22016), the National Natural Science Foundation of China (31902256), the National Center of Technology Innovation for Pigs (NCTIP-XD/C17), and the Chongqing Pig Industry Technology System (20211105).

*Corresponding author. E-mail: yechao123@swu.edu.cn

Received: 2023-06-05; Accepted: 2023-08-23; Published online: 2023-08-29

characterized by neurotropic infection and latent infection, posing a serious threat to human and animal health. The α -herpesvirus genome encodes a variety of proteins. *UL24*, a major virulence gene of α -herpesviruses, encodes a highly conserved protein and play a key role in regulating viral infection. This paper introduced the basic characteristics of *UL24* and the encoded protein and summarized the regulatory roles of *UL24* in the virus assembly, replication, infection, pathogenicity, and inhibition of host innate immunity, aiming to provide a theoretical reference for understanding the functions of α -herpesvirus proteins and further preventing and controlling α -herpesvirus infection.

Keywords: α -herpesvirus; *UL24*; biological functions

疱疹病毒(herpes virus)是一大类具有包膜的双链DNA病毒,目前分为 α 、 β 和 γ 3个亚科^[1]。其中, α 疱疹病毒在疱疹病毒这3个亚科中感染宿主范围最为广泛,是多种哺乳动物重要的嗜神经性感染病原体。例如,感染人类的 α 疱疹病毒有人单纯疱疹病毒I型(herpes simplex virus 1, HSV-1)、人单纯疱疹病毒II型(herpes simplex virus 2, HSV-2)和水痘带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV),感染其他动物的 α 疱疹病毒有牛疱疹病毒I型(bovine herpesvirus 1, BHV-1)、马疱疹病毒I型(equine herpes virus, EHV-1)、伪狂犬病毒(pseudorabies virus, PRV)、马立克氏病病毒(Marek's disease virus, MDV)、禽传染性喉气管炎病毒(avian infectious laryngotracheitis virus, AILTV)和鸭病毒性肠炎病毒(duck enteritis virus, DEV)等。值得一提的是,这些 α 疱疹病毒具有在宿主神经元中建立潜伏感染的特性。当宿主免疫力降低时,潜伏在宿主体内的病毒又能够被重新激活引起感染和致病。因此, α 疱疹病毒一旦感染相应宿主动物后往往难以彻底清除,对人畜的健康都具有较大的威胁。

研究发现所有 α 疱疹病毒可以编码近百种蛋白,这些蛋白在病毒生命周期和感染致病中发挥重要作用。其中,*UL24*蛋白在 α 疱疹病毒甚至整个疱疹病毒科中是非常保守的蛋白。除

了斑点叉尾鮰病毒(channel catfish virus, CCV)之外,目前测序完成的所有疱疹病毒基因组中都已经鉴定出*UL24*基因。研究发现 α 疱疹病毒编码的*UL24*蛋白是 α 疱疹病毒重要的毒力因子之一,在调控病毒的感染和复制中起着重要作用,对于研究 α 疱疹病毒致病机制具有重要的生物学意义^[2]。本文旨在围绕 α 疱疹病毒*UL24*基因及其编码蛋白基本特性,*UL24*蛋白在病毒的组装和复制、病毒的感染和致病以及抑制宿主免疫应答方面进行综述,为深入理解 α 疱疹病毒蛋白的功能和进一步防控 α 疱疹病毒感染提供理论参考。

1 *UL24* 基因及其编码蛋白基本特性

α 疱疹病毒基因组由特定长区(UL)和特定短区(US)2个共价结合的片段组成,每一个区域两侧都与反向重复序列相连,重复序列允许特定长区和特定短区结构重排^[1]。以HSV-1为例,HSV-1编码的*UL24*基因位于UL区,而且HSV-1的重要毒力基因胸苷激酶(thymidine kinase, *TK*)基因在其5'端以头对头方向与*UL24*基因序列重叠^[3]。进一步, Cook等发现HSV-1*UL24*基因转录模式是比较复杂的,*UL24*能够转录出6个(3对)长度不同的转录本,每对转录产物都是由1个短片段(0.9、1.2、1.4 kb)和1个长片段(5.2、

5.4、5.6 kb)组成,且这些转录本来源于之前确定的3个 *UL24* mRNA 转录起始位点^[4]。其中,3个较短的 *UL24* 转录本的3'末端在位于近端的 *UL24* 开放阅读框下游 poly(A)信号处终止。而3个较长的转录本3'末端在位于远端的 *UL26* 基因下游 poly(A)信号处终止(图1)。 α 疱疹病毒的基因根据其转录时期的早晚不同分为3类,即立即早期基因(immediate early, IE),早期基因(early, E)和晚期基因(late, L),研究表明 *UL24* 基因属于晚期基因,基因产物在病毒感染晚期累积,需要依赖病毒 DNA 的合成^[5-6]。此外,贾仁勇等将 DEV 的 *UL24* 基因与同属 α 疱疹病毒的 GaHV-1、GaHV-2、GaHV-3、HHV-1、HHV-2、HHV-3、BoHV-1、BoHV-2、BoHV-5、EHV-1、EHV-4、SuHV-1、MeHV-1、CaHV-1 和 FeHV-1 的 *UL24* 基因进行了相似性比较,发现 DEV *UL24* 基因与其他 α 疱疹病毒同源基因的相似性为 21.9%–34.7%,平均值为 26.4%。*UL24* 编码氨基酸序列的遗传

进化树分析显示 DEV-*UL24* 编码蛋白与火鸡疱疹病毒、禽传染性喉气管炎病毒、马立克病病毒、牛疱疹病毒、猫疱疹病毒 I 型以及马疱疹病毒等的亲缘性较近^[7-8],多种动物源的 α 疱疹病毒 *UL24* 氨基酸序列具有相似性和较近的亲缘关系,与 γ 疱疹病毒亲缘关系较远,并处于不同的进化分支(图2)。

UL24 基因在疱疹病毒家族中比较保守,特别是该基因编码蛋白的 N 端在不同疱疹病毒中高度保守^[9]。Carvalho 等通过对 EHV-1 *UL24* 基因同源物(ORF37)的部分 PCR 扩增和测序,研究了巴西 2 株具有代表性的 EHV-1 株(Kentucky-D 和 Hannover)序列变异情况,发现 2 株的核苷酸序列和氨基酸序列都存在保守性,且与其他 EHV-1 分离株和其他疱疹病毒的核苷酸序列具有很高的相似性^[10]。不过,由于 α 疱疹病毒亚科中不同病毒的遗传差异,导致不同病毒编码的 *UL24* 蛋白存在一定的差异。例如, Zhu 等发现

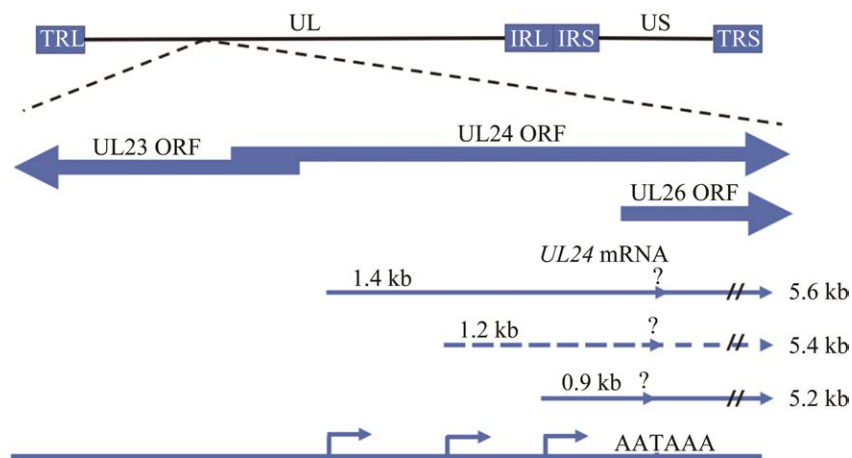


图1 HSV-1 基因组以及 *UL24* mRNA 转录的图谱^[4]

Figure 1 Map of HSV-1 genome and *UL24* mRNA transcription^[4]. The figure above depicts the relative position of the *UL24* open reading frame (ORF) and the transcription of *UL24* mRNA. The *UL24* ORF overlaps with the *UL23* ORF partially, and the transcription direction is opposite. The bottom line shows the confirmed *UL24* mRNA start sites (labeled with indicating arrows) and the potential *UL24* polyadenylation (poly(A)) sequence (AATAAA). The three lines in the middle refer to all the transcripts of *UL24*. The short mRNAs using the potential poly(A) signal are indicated by predicted sizes to the left of arrowheads, yet these transcripts have not been identified previously. Passing through poly(A) signal to the downstream site results in the longer transcripts (5.2, 5.4 and 5.6 kb) indicated by the sizes to the right.

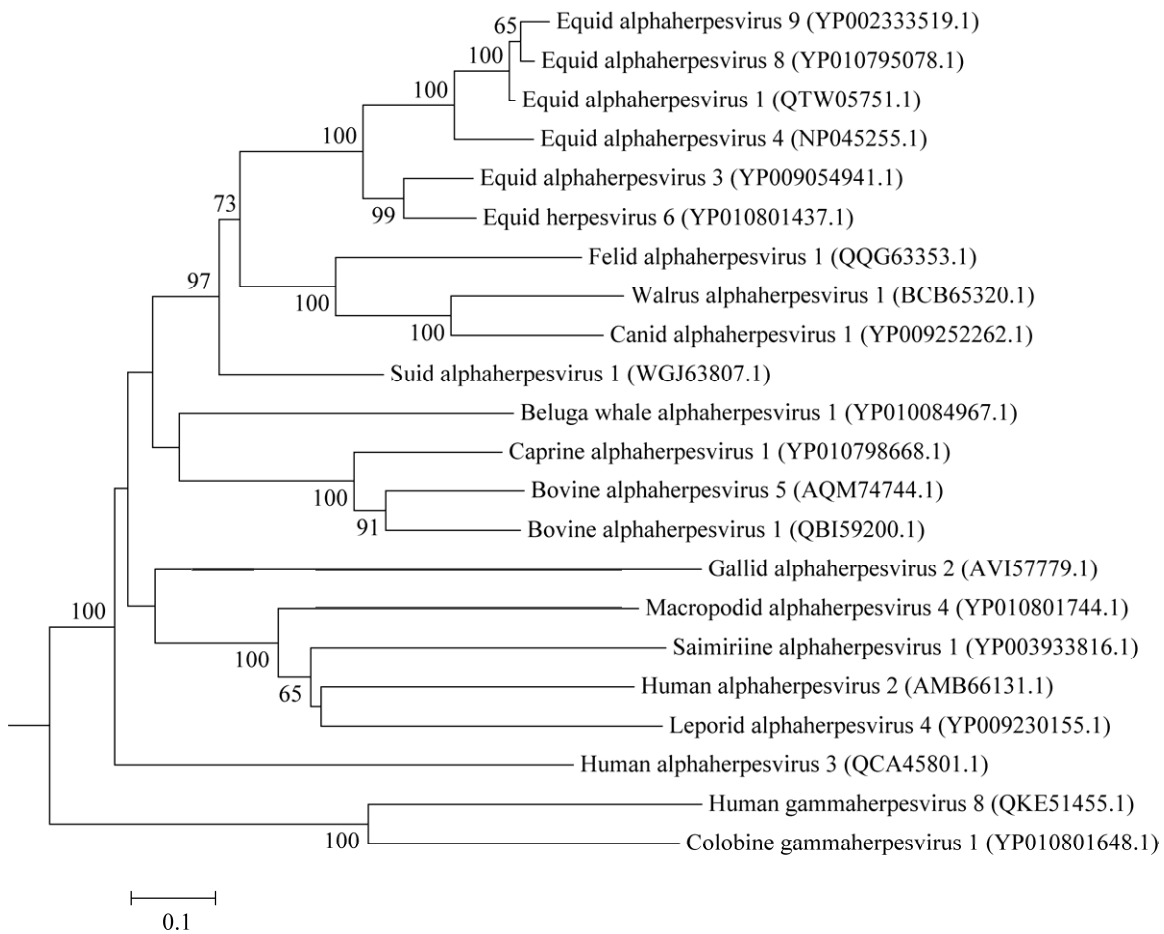


图 2 基于 UL24 蛋白氨基酸序列的邻接法系统发育分析

Figure 2 Phylogenetic analysis based on the UL24 amino acid sequences by using the neighbor-joining method.

HSV-2 *UL24* 基因编码一个分子质量为 32 kDa 包含 281 个氨基酸的蛋白质^[5]。Pearson 等在昆虫细胞表达 HSV-1 的 *UL24* 基因得到了一个编码 269 个氨基酸，分子质量为 30 kDa 的高度碱性蛋白^[6]。EHV-1 的 *UL24* 蛋白由 ORF37 编码，包含 272 个氨基酸^[10]。Dezélée 等通过对 PRV 进行相关研究，发现其 *UL24* ORF 编码 171 个氨基酸的蛋白质，相对分子质量为 19.076 kDa^[11]。猫疱疹病毒 I 型(feline herpesvirus type-1, FHV-1)的 *UL24* 蛋白由 260 个氨基酸组成，分子量为 28.5 kDa^[12]。

此外， α 疱疹病毒 *UL24* 蛋白在宿主细胞内具有独特的亚细胞定位特点。间接免疫荧光法

检测结果表明，在 HSV-2 感染的 Vero 细胞中，病毒表达的 *UL24* 蛋白以细胞核内染色为主，而细胞浆内荧光较弱^[5]，表明 HSV-2 的 *UL24* 蛋白主要在细胞核内定位。HSV-1 相关研究表明 *UL24* 蛋白可定位于细胞质和细胞核^[6,13]，而且 *UL24* 可以与细胞核内的核仁素蛋白共定位^[13]。DEV 的相关研究表明，用原核表达的 *UL24* 蛋白免疫获得的 DEV-*UL24* 抗血清进行间接免疫荧光检测，发现在病毒感染后 12 h *UL24* 蛋白在细胞质中出现，但随着感染的进行，核周区域 *UL24* 蛋白的比例逐步增加^[14]。FHV-1 *UL24* 蛋白则主要定位于细胞质的线粒体，少量位于

细胞核^[12]。苏鑫铭等通过将构建的 pEGFP-PRV *UL24* 转染 Vero、Marc-145、HEK-293 和 BHK-21 后在激光共聚焦显微镜下观察,发现 PRV *UL24* 融合蛋白在细胞核中富集,由此证明 PRV 编码的 *UL24* 是一种核蛋白^[15]。张言坤等通过构建 MDV *UL24* 真核重组表达质粒,并将质粒转染 CEF 细胞后在共聚焦显微镜下观察,发现 MDV *UL24* 蛋白主要在细胞质中,36 h 后部分出现在细胞核中^[16]。由此可见,绝大多数 α 疱疹病毒 *UL24* 蛋白具有核定位特性,提示其可能参与宿主和病毒生命活动的重要过程。

2 *UL24* 蛋白在病毒复制和组装方面的作用与机制

病毒复制和组装是病毒得以成功感染的必需环节,缺少了就无法形成具有感染性的病毒体, α 疱疹病毒亚科成员具有相同的复制增殖过程,涉及多个基因和多种蛋白的参与。*UL24* 蛋白在 α 疱疹病毒中具有高度保守性,在病毒的复

制、组装等方面发挥着重要作用。Pearson 等通过 HSV-1 感染细胞的核质分离实验,发现 *UL24* 蛋白的亚细胞定位主要与细胞核相关,特别是在感染的后期更为明显^[6]。Jia 等对 DEV *UL24* 进行了亚细胞定位研究,得到的结果与 HSV-1 *UL24* 相一致^[17]。Lymberopoulos 等通过构建一种能够融合表达血凝素(hemagglutinin, HA)标签和 *UL24* 蛋白的 HSV-1 重组病毒,对 *UL24* 蛋白在病毒感染的细胞中亚细胞定位进行了研究,确定了核仁是 *UL24* 蛋白靶向的细胞器,同时,还证明了 *UL24* 蛋白在感染期间核仁素扩散中发挥作用^[13]。*UL24* 对于核仁素的扩散是必需的,Bertrand 等进一步发现在没有其他病毒蛋白或病毒诱导的细胞修饰的情况下,*UL24* 蛋白的保守 N 端结构域足以特异性诱导核仁素的扩散^[9](表 1)。随后,Bertrand 等又在 HSV-1 *UL24* 基因中构建了一组针对 G121A 和 E99A/K101A 两个区域的替代突变,发现 E99A/K101A 突变在很大程度上损害了 HSV-1 诱导的核仁素的扩散^[18](表 1)。核仁素具有多种生物学功能,Ken 等通过构

表 1 α 疱疹病毒 *UL24* 蛋白的生物学功能

Table 1 Biological functions of *UL24* protein encoded by α herpesvirus

Biological functions of <i>UL24</i>	Specific manifestation of biological functions
The roles of <i>UL24</i> in viral replication and assembly	It affects the distribution of nucleolin and nuclear egress of viral nucleocapsid It can be individually involved in the replication and assembly of viruses It can interact with other proteins to affect viral assembly and replication
The roles of <i>UL24</i> in viral infection and pathogenesis	After deletion of <i>UL24</i> , the level of viral mRNA decreased, and the virus titer and pathogenicity decreased Deletion of <i>UL24</i> leads to syncytial CPE in infected cells It can participate in the latent infection of the virus and promote viral neurologic infection
The roles of <i>UL24</i> in inhibiting host innate immune response	It can antagonize the antiviral effects mediated by OASL and ISG20 It can inhibit the activation of NF- κ B mediated by TNF- α It can inhibit the activation of NF- κ B and IFN- β mediated by cyclicGMP-AMP synthase (cGAS) STING It can inhibit the expression of ZCCHC3, thus antagonizing the antiviral effect of ZCCHC3

建稳定表达核仁素 shRNA 的 Vero 细胞系来敲低宿主核仁素的表达, 然后用 HSV-1 感染该细胞, 发现核仁素的降低能够减少感染细胞中病毒核衣壳的积累, 揭示了核仁素能够影响 HSV-1 核衣壳的出核^[19](表 1)。由于 UL24 定位于细胞核并能够影响核仁素的扩散, 由此可以推论出 UL24 可能通过调控核仁素的扩散来影响病毒核衣壳的出核, 具体机制还需进一步研究。

UL24 作为 HSV-1 编码的蛋白基因之一, 参与病毒基因重组, 与病毒的复制和进化密切相关^[20]。Leiva-Torres 等建立了小鼠感染模型, 发现在 HSV-1 UL24 缺陷病毒感染组中, 尤其是在神经元中病毒滴度降低, 提示 UL24 参与 HSV-1 的复制^[21](表 1)。此外, HSV-1 UL24 编码一种潜在的 PD-(D/E)XK 核酸内切酶, 其与 UL12 编码的 PD-(D/E)XK 核酸外切酶能够相互协作, 最终导致多余的病毒核酸裂解^[22-23], 这对病毒的复制是必需的, 进一步为 UL24 参与病毒的复制提供了依据(表 1)。VZV ORF35 与 HSV-1 UL24 同源, 当缺失 ORF35 时, 可以检测到 VZV 在 T 细胞中的复制减少^[24], 而删除 BHV-1 UL24 开放阅读框, 则对体外病毒复制几乎没有影响^[25]。EHV-1 UL24 蛋白由 ORF37 基因编码, Kasem 等建立了 EHV-1 细菌人工染色体(Ab4p BAC)操作平台, 然后用 Ab4p ORF37 缺失的基因组 DNA 转染 RK-13 细胞, 发现在 RK-13 细胞中能够产生 ORF37 缺失的感染性病毒, 表明 ORF37 对于细胞培养中的 EHV-1 复制是非必需的^[26]。由此可见, UL24 基因参与病毒的复制和组装, 但是不同病毒的 UL24 在体内和体外中对病毒的影响有所差异。

UL24 还与其他蛋白发生相互作用, 来影响病毒的复制、组装等(表 1)。ICP27 蛋白是 HSV-1 的必需蛋白, 具有高度保守性, 它的主要功能是在转录后抑制 mRNA 的剪接以及促进转录产物

从细胞核输出^[27]。Hann 等发现 HSV-1 ICP27 参与调控 UL24 的 5.6 kb 的晚期长片段的有效表达, 提示 ICP27 可能通过影响 UL24 的 5.6 kb 长片段的表达进而影响 UL24 转录产物的生成和从细胞核的输出^[28]。细胞周期蛋白 B/Cdc2 是重要的中介因子, 余霞等^[29]和 Nascimento 等^[30]的研究发现 UL24 蛋白能够导致细胞有丝分裂合成的细胞周期蛋白 B/Cdc2 复合体失活, 进而引发细胞程序性死亡诱发的细胞周期停滞, 提示 UL24 蛋白通过影响细胞分裂周期调节蛋白从而控制细胞分裂周期。Ben 等发现 HSV-1 UL24 蛋白还能影响参与细胞融合的病毒糖蛋白 gB、gD、gH 和 gL 的亚细胞分布, HSV-1 UL24 缺失株感染细胞后, 可以明显看到病毒糖蛋白的染色形态发生变化, 且在感染后期 gB 和 gD 与 F-肌动蛋白的共定位明显减少, 提示 UL24 蛋白参与病毒感染过程中细胞融合阶段^[31]。TK 参与 UL24 蛋白的转录, Cook 等在 HSV-1 感染的早期发现 TK 水平的下降能够促进 UL24 mRNA 尤其是 1.4 kb 转录产物的积累^[3]。此外, Dauber 等发现单纯疱疹病毒宿主关闭蛋白(virion host shutoff protein, vhs)能够抑制 UL23 和 UL24 重叠部分 mRNA 在感染后期的积累, 从而抑制病毒的复制^[32]。DEV UL54 基因是 DEV 的一个早期基因, 虽然目前其表达蛋白的功能未知, 但 Gao 等在研究中发现 UL54 蛋白在 DEV 感染过程中促进 UL24 蛋白从细胞质向细胞核的运输, 从而促进病毒的复制和组装^[33]。由此可见, UL24 蛋白能够与多种蛋白相互作用, 并通过多种途径来参与病毒的复制和组装。

3 UL24 在病毒感染和致病方面的作用

UL24 在病毒感染和致病方面发挥着重要作用。Jacobson 等通过构建 HSV-1 UL24 缺失病毒,

并感染体外培养的细胞,发现 *UL24* 缺失感染组与野生型病毒感染组相比病毒滴度降低^[2](表 1)。同样, Sanabria 等对 HSV-1 *UL24* 进行缺失之后,发现缺失株在体内外病毒滴度以及 HSV-1 相关转录本水平均大大下降,最终导致 HSV-1 的致病性降低^[34](表 1)。Blakeney 等以 BALB/c 小鼠和 Hartley 豚鼠为动物模型,构建了 HSV-2 *UL24* β -葡萄糖醛酸苷酶(*UL24* β -glucuronidase, *UL24*- β Gluc)插入突变体病毒,经阴道接种 BALB/c 小鼠和 Hartley 豚鼠。实验结果表明,与野生型相比,突变体病毒对动物的致病性明显降低^[35](表 1)。Rochette 等利用小鼠眼部感染模型探究 HSV-1 *UL24* 缺陷病毒的感染性,发现由于突变病毒感染的神经元数量减少,小鼠上皮细胞中的病毒滴度下降,而且三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)中的病毒滴度也急剧下降^[36](表 1)。基于 HSV-1 和 HSV-2 *UL24* 缺失株的大量体外细胞感染试验表明, *UL24* 缺失株感染的细胞能够呈现出小斑块和合胞体病变(syncytium, syn),而且 syn 表型在高温下尤为突出^[35,37-39](表 1)。Carmichael 等通过对 HSV-1 *UL24*syn 与 gKsyn、gBsyn 和 *UL20*syn 进行比较,发现 *UL24*syn 需要 gI 参与^[40]。本课题组 Ye 等采用特异性 Cas9/gRNA 系统获得 *UL24* 缺失的 PRV (Δ *UL24*:122),发现缺失 *UL24* 后 PRV 仍能在细胞内复制,但复制和传播能力显著降低,但与 HSV-1 的相关研究不同, PRV *UL24* 的缺失不会诱导 Vero 细胞的合胞体病变(syn)^[41](表 1)。Kasem 等发现 EHV-1 ORF37 的缺失对牛肾上皮细胞(Madin-Darby bovine kidney, MDBK)细胞的生长活性没有影响,但是 EHV-1 ORF37 缺失株在 CBA/N1 小鼠中丧失了神经致病性^[26](表 1)。Whitbeck 等对 BHV-1 *UL24* ORF 进行缺失,发现 *UL24* 缺失后的 BHV-1 在体外细胞的复制未受影响,病毒仍具有感染性^[25](表 1)。

在 HSV-1 眼部感染小鼠模型中, *UL24* 的缺失^[34]和突变^[37]能够阻止 HSV-1 从角膜传播到三叉神经节神经元的急性感染,并且缺失病毒不仅在潜伏期的再激活方面都存在明显缺陷,而且缺失病毒在神经元中毒价会降低,影响病毒在神经细胞中的潜伏能力。此外, HSV-1 *UL24* 编码的一种潜在的核酸内切酶能够与一种核酸外切酶发生相互作用,从而在潜伏期破坏病毒的核酸,进一步表明 *UL24* 在疱疹病毒建立潜伏感染中的重要作用^[22-23](表 1)。不过, Huang 等利用 *TK* 和 *UL24* 双缺失的 HSV-1 突变病毒来感染免疫缺陷小鼠的外周和神经组织,发现 HSV-1 的突变病毒能够在免疫缺陷小鼠中建立潜伏感染^[42](表 1)。HSV-2 *UL24* 基因缺失之后,病毒的毒力尽管有所下降,但仍能建立潜伏感染^[2](表 1)。此外,也有一些研究推测 PRV *UL24* 与潜伏感染有关,但是仍需要进一步验证^[43]。由此可见, *UL24* 在 HSV-1 建立潜伏感染中十分重要,在其他疱疹病毒中是否发挥类似的作用还需进行探究。

4 *UL24* 抑制宿主先天免疫应答作用与机制

环状 GMP-AMP 合酶(cyclicGMP-AMP synthase, cGAS)与病毒 DNA 结合后激活第二信使环鸟苷单磷酸腺苷(cyclic guanosine adenosine monophosphate, cGAMP),进而激活下游 STING,然后募集并激活 TBK1,进一步激活干扰素(interferon, IFN)调节因子 3/7 或核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B),从而触发 I 型 IFN 的表达^[44-45]。干扰素产生之后,会与靶细胞受体结合,经过一系列信号传导激活干扰素刺激基因(interferon stimulates genes, ISGs)的表达, ISGs 及其表达产物一方面直接或间接发挥抗病毒等功能,同时也可以作为效应因子反过来调节干扰素信号通路发挥免疫调节功能。作为一种重

要的 ISG, OASL 在应对病毒感染方面十分复杂, 研究表明 OASL 蛋白可抑制 cGAS 介导的 IFN 产生和增强 RIG-I 介导的 IFN 诱导对 DNA 和 RNA 病毒产生不同影响^[46]。Chen 等发现 OASL 能够增强 RIG-I 介导的 IFN 表达来抑制 PRV 的感染, 并且当 UL24 和 RIG-I 同时存在时, 可以观察到 OASL mRNA 水平显著下降, 提示 UL24 能够拮抗 OASL 介导的抗病毒作用(表 1), 进一步研究发现 PRV UL24 诱导的 OASL 表达依赖于 IRF3^[47]。宿主干扰素刺激基因 20 (ISG20)能够降解病毒 RNA 或增强 IFN 信号传导发挥抗病毒作用。Chen 等发现在 PRV 感染期间 ISG20 能够增强 IFN- β 表达并增强 IFN 下游信号传导, 而 UL24 蛋白的 N 末端(氨基酸 1-90)能够抑制 ISG20 转录, 因此 PRV UL24 蛋白能够拮抗 ISG20 介导的抗病毒作用^[48](表 1)。在哺乳动物细胞中, NF- κ B 的主要形式是由 p50 和 RelA (p65)亚单位组成的异二聚体。TNF- α 主要通过 NF- κ B 途径调节宿主固有和适应性免疫应答。Xu 等通过突变分析发现, UL24 的 74-134 位氨基酸区域[UL24 (74-134)]能够抑制 cGAS-STING 介导的 NF- κ B 启动子活性^[49](表 1)。为探究 TNF- α 介导的 NF- κ B 激活与 PRV UL24 的关系, Wang 等使用 TNF- α 作为刺激物对 HEK 293T 细胞和 HeLa 细胞进行测试, 结果发现 UL24 能够通过泛素-蛋白酶体依赖途径有效降解 p65, 从而抑制 TNF- α 介导的 NF- κ B 的激活, 最终逃避宿主的免疫应答^[50](表 1)。Liu 等发现 PRV UL24 亦能通过蛋白酶体途径与 IRF7 相互作用来拮抗 cGAS-STING 介导的 IFN- β 激活^[51](表 1)。此外, Gao 等筛选了具有抑制 cGAS-STING 通路的 DEV 蛋白, 发现 DEV UL24 能够通过抑制 cGAS-STING 途径阻断 IFN- β 激活^[52](表 1)。锌指 CCHC 型含蛋白 3 (ZCCHC3)作为一种抗病毒因子, 与 RIG-I 和 cGAS-STING 相互作用以调节抵抗病毒感染的

先天免疫信号。Chen 等发现 PRV 编码的 UL13 和 UL24 蛋白能够抑制 ZCCHC3 的表达, 从而拮抗其抗病毒作用^[53](表 1)。综上所述, 多种 α 疱疹病毒的 UL24 蛋白能够采用多种机制抑制宿主先天免疫应答从而促进病毒感染。此外, Yu 等的研究发现, 以减毒沙门菌为载体表达 DEV UL24 基因所产生的 DNA 疫苗能够诱导全身和黏膜免疫反应, 具有良好的抗 DEV 病毒感染作用, 表明 UL24 具有良好的抗原性以及作为疫苗开发候选蛋白的重要潜力^[54]。

5 小结

α 疱疹病毒是多种哺乳动物如人、牛、马和猪等的重要的嗜神经性感染病原体, 能造成人和动物的神经感染, 危害巨大。此外, α 疱疹病毒能够在宿主体内建立潜伏感染, 一旦感染往往难以彻底清除。近些年, 随着对于 α 疱疹病毒研究的不断深入, 发现所有 α 疱疹病毒 UL24 蛋白功能复杂, 在病毒体内外感染、致病以及潜伏感染过程中均发挥着不可或缺的作用。比如, UL24 蛋白参与 α 疱疹病毒的组装和复制过程, 影响核仁素的扩散, 从而控制病毒核衣壳的出核, 而且 UL24 蛋白还能够与其他蛋白相互作用进而影响 α 疱疹病毒组装和复制。此外, UL24 蛋白能够与 cGAS-STING 通路的 p65 分支和干扰素刺激基因 ISGs 相互作用, 从而抑制宿主的先天免疫应答。而利用基因敲除技术研究 UL24 基因对于病毒毒力的影响, 发现其缺失后, 病毒的毒力和潜伏感染能力均显著降低。因此, 在今后 α 疱疹病毒相关疫苗的研究中, 可通过在病毒基因组中敲除该基因, 研发更加安全高效的疫苗。除了 α 疱疹病毒外, 其他疱疹病毒也具有 UL24 基因, 那么对 α 疱疹病毒 UL24 生物学功能的研究也能够为其他种类疱疹病毒的研究奠定理论基础。

值得注意的是, 伪狂犬病毒(PRV)是猪的一

种 α 疱疹病毒, 该病毒的流行毒株在我国各省市猪场中广泛存在。目前临床上主要使用 gE 缺失疫苗进行防控, 但是猪群中 gE 抗体的阳性率依旧很高, 表明野毒株在猪群体内的感染依然存在, 疫苗的防控效果并不理想, 亟需开发新型疫苗对 PRV *UL24* 基因开展研究, 发现 PRV *UL24* 基因缺失后病毒毒力显著下降, 而且 PRV *UL24* 能够通过蛋白酶体途径与 IRF7 相互作用来拮抗 cGAS-STING 介导的 IFN- β 激活, 提示 *UL24* 基因是 PRV 重要的毒力基因且能够抑制宿主天然免疫应答, 因此 *UL24* 可以作为构建低毒力并能有效激活机体免疫的缺失疫苗的靶标基因。未来, 研究人员可进一步针对 PRV *UL24* 蛋白在病毒核衣壳出核、病毒潜伏感染以及拮抗宿主天然抗病毒免疫等方面开展研究, 探明 PRV *UL24* 在以上方面的作用机制与生物学功能, 从而为 PRV 的病原学和临床防控研究提供重要参考。

参考文献

- [1] NISHIYAMA Y. Herpes simplex virus gene products: the accessories reflect her lifestyle well[J]. *Reviews in Medical Virology*, 2004, 14(1): 33-46.
- [2] JACOBSON JG, CHEN SH, COOK WJ, KRAMER MF, COEN DM. Importance of the herpes simplex virus *UL24* gene for productive ganglionic infection in mice[J]. *Virology*, 1998, 242(1): 161-169.
- [3] COOK WJ, WOBBE KK, BÖNI J, COEN DM. Regulation of neighboring gene expression by the herpes simplex virus type 1 thymidine kinase gene[J]. *Virology*, 1996, 218(1): 193-203.
- [4] COOK WJ, COEN DM. Temporal regulation of herpes simplex virus type 1 *UL24* mRNA expression via differential polyadenylation[J]. *Virology*, 1996, 218(1): 204-213.
- [5] ZHU HY, MURATA T, GOSHIMA F, TAKAKUWA H, KOSHIZUKA T, YAMAUCHI Y, NISHIYAMA Y. Identification and characterization of the *UL24* gene product of herpes simplex virus type 2[J]. *Virus Genes*, 2001, 22(3): 321-327.
- [6] PEARSON A, COEN DM. Identification, localization, and regulation of expression of the *UL24* protein of herpes simplex virus type 1[J]. *Journal of Virology*, 2002, 76(21): 10821-10828.
- [7] 贾仁勇, 程安春, 汪铭书, 葛菡, 朱德康, 信洪一, 齐雪峰, 陈孝跃. 鸭瘟病毒 *UL24* 基因的分子特征分析[J]. *中国兽医科学*, 2009, 39(2): 110-118.
JIA RY, CHENG AC, WANG MS, GE H, ZHU DK, XIN HY, QI XF, CHEN XY. Analysis of molecular characteristics of duck plague virus *UL24* gene[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2009, 39(2): 110-118 (in Chinese).
- [8] JIA RY, CHENG AC, WANG MS, XIN HY, GUO YF, ZHU DK, QI XF, ZHAO LC, GE H, CHEN XY. Analysis of synonymous codon usage in the *UL24* gene of duck enteritis virus[J]. *Virus Genes*, 2009, 38(1): 96-103.
- [9] BERTRAND L, PEARSON A. The conserved N-terminal domain of herpes simplex virus 1 *UL24* protein is sufficient to induce the spatial redistribution of nucleolin[J]. *Journal of General Virology*, 2008, 89(5): 1142-1151.
- [10] CARVALHO RF, SPILKI FR, CUNHA EM, STOCCO RC, ARNS CW. Molecular data of *UL24* homolog gene (ORF37) from Brazilian isolates of equine herpesvirus type 1[J]. *Research in Veterinary Science*, 2012, 93(1): 494-497.
- [11] DEZÉLÉE S, BRAS F, VENDE P, SIMONET B, NGUYEN X, FLAMAND A, MASSE MJ. The *BamH I* fragment 9 of pseudorabies virus contains genes homologous to the *UL24*, *UL25*, *UL26*, and *UL26.5* genes of herpes simplex virus type 1[J]. *Virus Research*, 1996, 42(1-2): 27-39.
- [12] 张茜. 猫疱疹病毒 1 型 *UL24* 蛋白转录、表达和定位及其缺失株的构建和部分生物学特性研究[D]. 吉林: 吉林农业大学硕士学位论文, 2021.
ZHANG Q. Expression characteristics of recombinant feline herpesvirus type 1 lacking *UL24* herpesvirus type 1 *UL24* protein, construction and biological characteristics of transcription, expression and location of feline[D]. Jilin: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2021 (in Chinese).

- [13] LYMBEROPOULOS MH, PEARSON A. Involvement of UL24 in herpes-simplex-virus-1-induced dispersal of nucleolin[J]. *Virology*, 2007, 363(2): 397-409.
- [14] LI HX, LIU SW, KONG XG. Characterization of the genes encoding UL24, TK and gH proteins from duck enteritis virus (DEV): a proof for the classification of DEV[J]. *Virus Genes*, 2006, 33(2): 221-227.
- [15] 苏鑫铭, 徐亚林, 于春梅, 曹瑞兵, 周斌, 陈溥言. 伪狂犬病病毒 *ul24* 基因表达蛋白的胞内定位研究[J]. *中国病毒学*, 2006, 21(5): 463-467.
SU XM, XU YL, YU CM, CAO RB, ZHOU B, CHEN PY. Intracellular localization of pseudorabies virus UL24 protein[J]. *Virologica Sinica*, 2006, 21(5): 463-467 (in Chinese).
- [16] 张言坤, 吴佳燕, 韩妮, 周忠文, 苏帅, 崔治中. I型马立克病毒 UL24 蛋白的原核表达及其亚细胞定位的研究[J]. *病毒学报*, 2018, 34(1): 67-74.
ZHANG YK, WU JY, HAN N, ZHOU ZW, SU S, CUI ZZ. Study of prokaryotic expression and subcellular localization of serotype I MDV UL24 protein[J]. *Chinese Journal of Virology*, 2018, 34(1): 67-74 (in Chinese).
- [17] JIA RY, CHENG AC, WANG MS, ZHU DK, GE H, XIN HY, LIU F, LUO QH, GUO YF, QI XF, YIN ZQ, CHEN XY. Cloning, expression, purification and characterization of UL24 partial protein of duck enteritis virus[J]. *Intervirology*, 2009, 52(6): 326-334.
- [18] BERTRAND L, LEIVA-TORRES GA, HYJAZIE H, PEARSON A. Conserved residues in the UL24 protein of herpes simplex virus 1 are important for dispersal of the nucleolar protein nucleolin[J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(1): 109-118.
- [19] KEN SG, UEMA M, KAWAGUCHI Y. Nucleolin is required for efficient nuclear egress of herpes simplex virus type 1 nucleocapsids[J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(4): 2110-2121.
- [20] LILLEY CE, CARSON CT, MUOTRI AR, GAGE FH, WEITZMAN MD. DNA repair proteins affect the lifecycle of herpes simplex virus 1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(16): 5844-5849.
- [21] LEIVA-TORRES GA, ROCHETTE PA, PEARSON A. Differential importance of highly conserved residues in UL24 for herpes simplex virus 1 replication *in vivo* and reactivation[J]. *Journal of General Virology*, 2010, 91(5): 1109-1116.
- [22] BUJNICKI JM, RYCHLEWSKI L. The herpesvirus alkaline exonuclease belongs to the restriction endonuclease PD-(D/E)XK superfamily: insight from molecular modeling and phylogenetic analysis[J]. *Virus Genes*, 2001, 22(2): 219-230.
- [23] KNIZEWSKI L, KINCH L, GRISHIN NV, RYCHLEWSKI L, GINALSKI K. Human herpesvirus 1 *UL24* gene encodes a potential PD-(D/E)XK endonuclease[J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(5): 2575-2577.
- [24] ITO H, SOMMER MH, ZERBONI L, BAIKER A, SATO B, LIANG RB, HAY J, RUYECHAN W, ARVIN AM. Role of the *Varicella-zoster* virus gene product encoded by open reading frame 35 in viral replication *in vitro* and in differentiated human skin and T cells *in vivo*[J]. *Journal of Virology*, 2005, 79(8): 4819-4827.
- [25] WHITBECK JC, LAWRENCE WC, BELLO LJ. Characterization of the bovine herpesvirus 1 homolog of the herpes simplex virus 1 UL24 open reading frame[J]. *Virology*, 1994, 200(1): 263-270.
- [26] KASEM S, YU MHH, YAMADA S, KODAIRA A, MATSUMURA T, TSUJIMURA K, MADBOULY H, YAMAGUCHI T, OHYA K, FUKUSHI H. The ORF37 (UL24) is a neuropathogenicity determinant of equine herpesvirus 1 (EHV-1) in the mouse encephalitis model[J]. *Virology*, 2010, 400(2): 259-270.
- [27] ZHAO L, ZHU WB, DING Q, PENG GQ, ZHENG CF. The herpes simplex virus type 1 multiple function protein ICP27[J]. *Virologica Sinica*, 2008, 23(6): 399-405.
- [28] HANN LE, COOK WJ, UPRICHARD SL, KNIPE DM, COEN DM. The role of herpes simplex virus ICP27 in the regulation of *UL24* gene expression by differential polyadenylation[J]. *Journal of Virology*, 1998, 72(10): 7709-7714.
- [29] 余霞, 黄娟, 高兴红, 贾仁勇. 疱疹病毒 *UL24* 基因及其编码蛋白的研究进展[J]. *中国兽医科学*, 2011, 41(7): 761-764.
YU X, HUANG J, GAO XH, JIA RY. Research advances in *UL24* gene of herpesvirus and its encoding protein[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2011, 41(7): 761-764 (in Chinese).
- [30] NASCIMENTO R, DIAS JD, PARKHOUSE RM. The conserved UL24 family of human alpha, beta and

- gamma herpesviruses induces cell cycle arrest and inactivation of the cyclinB/cdc2 complex[J]. *Archives of Virology*, 2009, 154(7): 1143-1149.
- [31] BEN ABDELJELIL N, ROCHETTE PA, PEARSON A. The UL24 protein of herpes simplex virus 1 affects the sub-cellular distribution of viral glycoproteins involved in fusion[J]. *Virology*, 2013, 444(1-2): 263-273.
- [32] DAUBER B, SAFFRAN HA, SMILEY JR. The herpes simplex virus host shutoff (vhs) RNase limits accumulation of double stranded RNA in infected cells: evidence for accelerated decay of duplex RNA[J]. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(10): e1008111.
- [33] GAO XH, JIA RY, WANG MS, YANG Q, CHEN S, LIU MF, YIN ZQ, CHENG AC. Duck enteritis virus (DEV) UL54 protein, a novel partner, interacts with DEV UL24 protein[J]. *Virology Journal*, 2017, 14(1): 166.
- [34] SANABRIA-SOLANO C, ELENA GONZALEZ C, RICHERIOUX N, BERTRAND L, DRIDI S, GRIFFITHS A, LANGELIER Y, PEARSON A. Regulation of viral gene expression by the herpes simplex virus 1 UL24 protein (HSV-1 UL24 inhibits accumulation of viral transcripts)[J]. *Virology*, 2016, 495: 148-160.
- [35] BLAKENEY S, KOWALSKI J, TUMMOLO D, DESTEFANO J, COOPER D, GUO M, GANGOLLI S, LONG D, ZAMB T, NATUK RJ, VISALLI RJ. Herpes simplex virus type 2 *UL24* gene is a virulence determinant in murine and Guinea pig disease models[J]. *Journal of Virology*, 2005, 79(16): 10498-10506.
- [36] ROCHETTE PA, BOURGET A, SANABRIA-SOLANO C, LAHMIDI S, LAVALLÉE GO, PEARSON A. Mutation of UL24 impedes the dissemination of acute herpes simplex virus 1 infection from the cornea to neurons of trigeminal ganglia[J]. *Journal of General Virology*, 2015, 96(9): 2794-2805.
- [37] JACOBSON JG, MARTIN SL, COEN DM. A conserved open reading frame that overlaps the herpes simplex virus thymidine kinase gene is important for viral growth in cell culture[J]. *Journal of Virology*, 1989, 63(4): 1839-1843.
- [38] SANDERS PG, WILKIE NM, DAVISON AJ. Thymidine kinase deletion mutants of herpes simplex virus type 1[J]. *Journal of General Virology*, 1982, 63(2): 277-295.
- [39] TOGNON M, GUANDALINI R, ROMANELLI MG, MANSERVIGI R, TREVISANI B. Phenotypic and genotypic characterization of locus Syn 5 in herpes simplex virus 1[J]. *Virus Research*, 1991, 18(2-3): 135-150.
- [40] CARMICHAEL JC, WILLS JW. Differential requirements for gE, gI, and UL16 among herpes simplex virus 1 syncytial variants suggest unique modes of dysregulating the mechanism of cell-to-cell spread[J]. *Journal of Virology*, 2019, 93(15): e00494-e00419.
- [41] YE C, CHEN J, CHENG XF, ZHOU SS, JIANG S, XU JJ, ZHENG H, TONG W, LI GX, TONG GZ. Functional analysis of the UL24 protein of suid herpesvirus 1[J]. *Virus Genes*, 2019, 55(1): 76-86.
- [42] HUANG CY, YAO HW, WANG LC, SHEN FH, HSU SM, CHEN SH. Thymidine kinase-negative herpes simplex virus 1 can efficiently establish persistent infection in neural tissues of nude mice[J]. *Journal of Virology*, 2017, 91(4): e01979-e01916.
- [43] 于春梅, 李鹏, 郑其升, 李斐, 苏鑫铭, 曹瑞兵, 周斌, 陈溥言. 伪狂犬病病毒 UL24 基因的原核表达及抗 UL24 蛋白抗体的制备[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2007, 35(9): 10-14.
- YU CM, LI P, ZHENG QS, LI F, SU XM, CAO RB, ZHOU B, CHEN PY. Prokaryotic expression and antibody preparation for the pseudorabies virus UL24 protein[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2007, 35(9): 10-14 (in Chinese).
- [44] HOPFNER KP, HORNUNG V. Molecular mechanisms and cellular functions of cGAS-STING signalling[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(9): 501-521.
- [45] DECOU A, KATZ JD, VENKATRAMAN S, ABLASSER A. The cGAS-STING pathway as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2021, 21(9): 548-569.
- [46] ZHU J, GHOSH A, SARKAR SN. OASL—a new player in controlling antiviral innate immunity[J]. *Current Opinion in Virology*, 2015, 12: 15-19.
- [47] CHEN XY, KONG N, XU JJ, WANG J, ZHANG ML, RUAN KY, LI LW, ZHANG YJ, ZHENG H, TONG W,

- LI GX, SHAN TL, TONG GZ. Pseudorabies virus UL24 antagonizes OASL-mediated antiviral effect[J]. *Virus Research*, 2021, 295: 198276.
- [48] CHEN XY, SUN DG, DONG SJ, ZHAI HJ, KONG N, ZHENG H, TONG W, LI GX, SHAN TL, TONG GZ. Host interferon-stimulated gene 20 inhibits pseudorabies virus proliferation[J]. *Virologica Sinica*, 2021, 36(5): 1027-1035.
- [49] XU HY, SU CH, PEARSON A, MODY CH, ZHENG CF. Herpes simplex virus 1 UL24 abrogates the DNA sensing signal pathway by inhibiting NF- κ B activation[J]. *Journal of Virology*, 2017, 91(7): e00025-e00017.
- [50] WANG TY, YANG YL, FENG C, SUN MX, PENG JM, TIAN ZJ, TANG YD, CAI XH. Pseudorabies virus UL24 abrogates tumor necrosis factor alpha-induced NF- κ B activation by degrading P65[J]. *Viruses*, 2020, 12(1): 51.
- [51] LIU X, ZHANG ML, YE C, RUAN KY, XU AY, GAO F, TONG GZ, ZHENG H. Inhibition of the DNA-sensing pathway by pseudorabies virus UL24 protein *via* degradation of interferon regulatory factor 7[J]. *Veterinary Microbiology*, 2021, 255: 109023.
- [52] GAO L, LIU R, YANG FC, LI XH, LIU CJ, QI XL, CUI HY, ZHANG YP, WANG SY, WANG XM, GAO YL, LI K. Duck enteritis virus inhibits the cGAS-STING DNA-sensing pathway to evade the innate immune response[J]. *Journal of Virology*, 2022, 96(24): e0157822.
- [53] CHEN XY, SHAN TL, SUN DG, ZHAI HJ, DONG SJ, KONG N, ZHENG H, TONG W, TONG GZ. Host zinc-finger CCHC-type containing protein 3 inhibits pseudorabies virus proliferation by regulating type I interferon signaling[J]. *Gene*, 2022, 827: 146480.
- [54] YU X, JIA RY, HUANG J, SHU B, ZHU DK, LIU Q, GAO XH, LIN M, YIN ZQ, WANG MS, CHEN S, WANG Y, CHEN XY, CHENG AC. Attenuated *Salmonella typhimurium* delivering DNA vaccine encoding duck enteritis virus UL24 induced systemic and mucosal immune responses and conferred good protection against challenge[J]. *Veterinary Research*, 2012, 43(1): 56.