

知識天地

閒話家常痘病毒

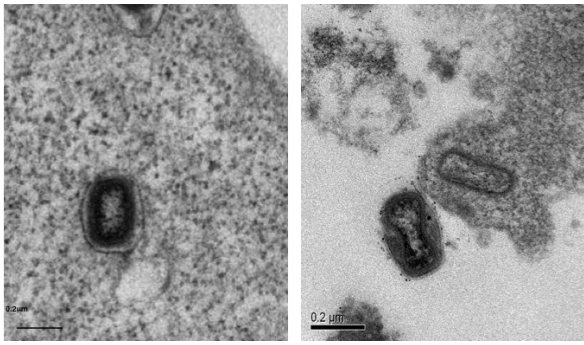
張書蓉博士生、張雯研究員（分子生物研究所）

在我們生活的每一天，我們去不同的地方、接觸不同的人事物，很少人當下會想到我們同時也在接觸不同的細菌與病毒。翻開人類歷史上慘痛的一頁，痘病毒中最兇狠的天花病毒早在西元前一千多年傳播於埃及，並在法老王的臉上留下痘疤的證據。天花病毒隨著人類的足跡四處散布各大洲；我們的老祖宗在東晉時即明確記載著「此歲有病時行，仍發瘡頭面及身。須臾周匝，狀如火瘡，皆載白漿。隨決隨生，不即治，劇者多死；治得差者，瘡癍紫黑，彌歲方滅」。而在地球的另一端，天花亦差點改寫美國獨立戰爭的歷史。更不用提在歐洲，曾雄霸一方的羅馬帝國也在天花大流行中喪失了幾百萬條的人命。即便遠在南半球的澳洲都沒逃過天花的肆虐。雖然經由牛痘疫苗的普及推廣，天花病毒目前已在人類社會中絕跡，只有少數病毒儲存於美俄兩國之疾管局，其存廢與否也常成為討論的話題。然而，除天花外，至今，天花的近親，猴痘病毒仍在非洲社會上傳佈，在人體內產生類似天花的病徵。2003年猴痘病毒甚至透過寵物鼠做媒介走私到美國，在短短幾個月內散布到好幾個州的意外。而我們所居住的台灣這幾年也爆發過羊痘的疫情，來源不明，造成畜牧業的重大經濟損失。由於上述病毒之毒性過強及取得不易，長期下來，科學家對痘病毒感染細胞之分子機制並不清楚。本實驗室主要想了解痘病毒是如何認識細胞及利用何種路徑來感染細胞。因此研究上以較安全之牛痘病毒做為研究材料。基於痘病毒的複雜性，此類研究需要長期投入，方可對其感染途徑有些許了解。

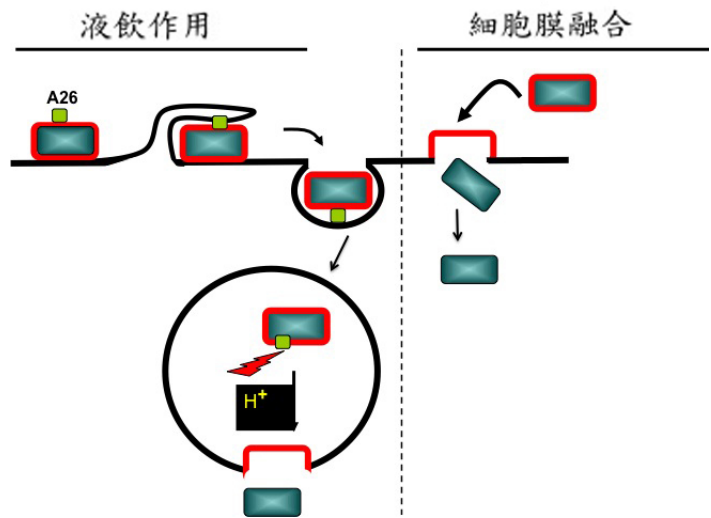
由於病毒多易於突變而且寄主的個體差異極大，一般研究病毒感染的實驗均先利用細胞株來了解病毒的基本特性，例如外型結構、生長週期長短、感染力的高低。單一牛痘病毒顆粒之質量十分微小，只有約 $5 \times 10^{-15} \text{g}$ (5 fg)。電子顯微鏡下牛痘病毒呈長磚塊形，長寬約 $250 \text{nm} \times 350 \text{nm}$ ，是屬於尺寸相當大的病毒。牛痘病毒粒子成分複雜，單一的病毒顆粒包含約 80 種不同之病毒蛋白質。相較於表面只有 2 種鞘膜蛋白質的 HIV 及流感病毒，牛痘病毒表面上的鞘膜蛋白質多至 20 餘種；有些鞘膜蛋白質參與病毒組裝過程、有些幫助病毒的移動、另外至少有 16 種鞘膜蛋白質直接參與牛痘病毒感染細胞的過程，其數目之多也是其他病毒無法望其項背。

由於痘病毒有鞘膜，進入細胞的過程中病毒必須先附著在細胞表面、接著去膜，病毒基因方可在細胞中大量複製。以牛痘為例，其病毒具有四個鞘膜蛋白質（H3, A26, A27, D8）以幫助附著於細胞表面上的 glycosaminoglycans (GAG) 及 laminin。附著後的病毒會誘導細胞內的蛋白質像是 Akt, Erk 及 PKC 訊息活化，使病毒聚集到具有較多脂筏 (lipid rafts) 的特定表面區，並且加強細胞 Rac 蛋白質之活化，以產生細胞肌動蛋白質之聚合 (actin polymerization) 作用，將病毒以液飲 (fluid phase endocytosis) 之方式吞入細胞內 (圖 1 左)，此時的牛痘病毒被囊泡所包裹著，接下來，囊泡內的環境酸性逐漸增強，活化病毒膜融合功用，驅使病毒鞘膜與囊泡膜融合，達到去膜的目的，使病毒基因體進入細胞質中。

由於 GAG 及 laminin 存在於許多細胞之表面，藉由上述過程，牛痘病毒可以感染非常多的組織細胞，增加其寄主感染的範圍。此外，利用前述液飲吞噬之方式進入細胞，可以減少病毒蛋白質暴露在細胞表面的時間，以免刺激寄主的免疫系統產生抗病毒之免疫反應；可謂一舉兩得。即便如此，牛痘病毒入侵細胞的方法卻可以更多元。我們發現一旦將病毒上的 A26 基因剔除後，產生的牛痘變異病毒，WRΔA26，並未喪失感染力，更有趣的是：此牛痘變異病毒改變其進入細胞的方式。WRΔA26 病毒附著在細胞後，此病毒不需囊泡酸化的過程，病毒鞘膜即可直接與細胞膜融合，完成感染 (圖 1 右)。目前我們認為病毒顆粒上的 A26 鞘膜蛋白質在中性環境下可以抑制膜融合，而此抑制力對酸敏感，因此囊泡中之病毒其 A26 鞘膜蛋白質抑制能力下降，使膜融合得以進行。若無此調控之必要，類似於 WRΔA26 之痘病毒則可直接在細胞膜上進行膜融合 (圖 2)。



(圖 1) 牛痘病毒感染細胞的兩種模式。左圖為病毒經由液飲作用進入細胞的囊泡中。右圖為病毒直接與細胞膜融合。



(圖 2) 依據實驗模式，我們認為在病毒顆粒的表面上，A26 鞘膜蛋白質的作用在於抑制膜融合的進行，一旦 A26 的抑制能力在酸性環境的囊泡內下降後，兩者的膜融合得以進行，最後病毒的基因體便進入細胞質中。相反的，WRΔ26 的變異病毒，則可直接在細胞膜上進行融合，完成感染。

近年來由於定序技術的進步，不同之痘病毒亦可藉由快速而完整的基因定序來比較病毒基因之異同。與牛痘病毒相比，天花病毒及猴痘病毒之基因序列均帶有 A26 基因；而羊痘病毒卻已剔除 A26 基因。上述研究顯示，我們可以藉由研究牛痘病毒的感染途徑，發現鞘膜蛋白質如何調控病毒入侵細胞之機制。這些結果是否可用來模擬其他高致病性之痘病毒散布途徑，以發展有效的對策，則有待更多的研究。

由病毒的演化來看，雖說生命總是會自尋出路，找到適當的寄主。然而諷刺的是：人類馬不停蹄的擴張領域，間接幫助了病毒的傳播，招致病毒的反噬。能否改變我們的生活思維，反省人類的進化論調，也是研究之餘的另類思考的課題吧。