

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.07.033

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.07.033>

## 肠道病毒引起胰岛 $\beta$ 细胞损伤的分子机制

潘海东<sup>1</sup> 综述 刘启亮<sup>2</sup>, 郑天鹏<sup>1</sup> 审校

(桂林医学院 1. 第二附属医院内分泌科; 2. 生物技术学院, 广西 桂林 541199)

**[摘要]** 1型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)是儿童和青少年中的一种常见慢性疾病,其主要特点是胰岛 $\beta$ 细胞显著减少,胰岛素分泌不足,血糖升高,且容易引起一系列并发症,需要终身注射外源性胰岛素。在T1DM患者的胰岛细胞和血液中发现肠道病毒(enteroviruses, EV)及其相关蛋白质,提示EV感染与 $\beta$ 细胞损伤密切相关,特别是柯萨奇B组4型病毒(coxsackievirus B4, CVB4)。目前,主流观点认为EV引起自身免疫反应导致胰岛 $\beta$ 细胞死亡而致T1DM的发生,但EV引起胰岛 $\beta$ 细胞损伤和死亡的机制尚未明确。

**[关键词]** 1型糖尿病; 肠道病毒; 自身免疫反应

## Molecular mechanism of pancreatic $\beta$ -cell damage induced by enterovirus infection

PAN Haidong<sup>1</sup>, LIU Qiliang<sup>2</sup>, ZHENG Tianpeng<sup>1</sup>

(1. Department of Endocrinology, Second Affiliated Hospital; 2. Biotechnology College, Guilin Medical University, Guilin Guangxi 541199, China)

**Abstract** Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is one of the most common chronic diseases in childhood and adolescents, the main feature of which is the destruction of the insulin-producing pancreatic beta cells and the subsequent loss of insulin, and the accumulation of glucose in the blood; resulting in the late development of vascular and neuropathic complication, and consequently, patients with T1DM remain insulin-dependent for their lifespan. Enteroviral RNA and proteins has been detected in the blood of T1DM patients and serological analysis confirmed a link between enteroviral infection and T1DM, particularly for the coxsackievirus B4 (CVB4) serotype. It's unknown, however, that potential mechanisms by which enteroviruses could contribute to the specific destruction of pancreatic  $\beta$  cells in T1DM.

**Keywords** type 1 diabetes; enterovirus; autoimmunity

收稿日期 (Date of reception): 2018-05-07

通信作者 (Corresponding author): 郑天鹏, Email: 95623892@qq.com

基金项目 (Foundation item): 广西高校中青年教师基础能力提升项目 (2017KY0488)。This work was supported by the Fundamental Ability Improving Program for Young and Mid-aged University Teachers in Guangxi, China (2017KY0488).

1型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)是T细胞介导胰岛β细胞损伤, 导致胰岛素分泌不足为特征的器官特异性自身免疫疾病<sup>[1]</sup>, 但引起β细胞特异性自身免疫细胞和抗体的病原性因素尚不明确。目前已发现60多个与T1DM相关的基因<sup>[2]</sup>, 提示T1DM的发生可能与基因有关; 但Redondo等<sup>[3]</sup>发现同卵双胞胎人群中T1DM的发病率并不一致(30%~65%)。同时, Bodansky等<sup>[4]</sup>发现从T1DM低发区移民到高发区, 移民家庭儿童的T1DM发生率也会提高, 提示T1DM的发生, 除基因因素外, 环境因素也发挥重要作用。Yoon等<sup>[5]</sup>从死于T1DM酮症酸中毒的10岁小男孩的胰腺组织中分离出一种柯萨奇B组4型病毒(coxsackievirus B4, CVB4); 此后研究<sup>[6]</sup>发现新发T1DM患者胰岛中能分离出肠道病毒(enteroviruses, EV)RNA序列和蛋白质成分。提示EV和胰岛β细胞损伤之间存在紧密联系<sup>[7]</sup>。当人体感染EV后, EV通过不同受体介导进入胰岛细胞中, 在胰岛引起局部炎症反应, 对β细胞进行直接攻击, 即病毒对β细胞的杀细胞效应导致β细胞死亡, 此外, EV可以引起一系列的免疫反应: 主要包括持续病毒感染、分子模拟机制、旁路激活途径以及表位扩展等对β细胞造成损伤。

## 1 直接损伤

2000年Imagawa等<sup>[8]</sup>发现爆发性1型糖尿病(fulminant type 1 diabetes mellitus, FT1DM)的主要特征包括胰岛细胞快速被破坏且迅速并发高糖血症和酮症酸中毒。其起病前大多数有流感和胃肠道症状, 提示感染是FT1DM发生的重要因素。2003年Imagawa等<sup>[9]</sup>全国性调查FT1DM发现在自身免疫性糖尿病中, 流感症状和胃肠道症状在FT1DM中更加常见。Tanaka等<sup>[10]</sup>对死于FT1DM的患者的胰岛组织进行免疫荧光检测发现所有胰岛存在EV衣壳蛋白, 提示EV对胰岛β细胞的直接损伤可以导致β细胞死亡, 进而引起T1DM。

## 2 持续感染

胰岛β细胞受到EV感染后, 通过各种途径激活免疫反应, 清除进入机体的病毒和受感染的β细胞。在急性感染期间, 病毒的大量扩增诱导抗病毒免疫反应, 导致易感人群的胰岛β细胞死亡。除FT1DM外, β细胞的丢失缓慢, 但由于胰岛β细胞不可再生, 已死亡的胰岛β细胞无法补充, 导致胰岛素分泌不足, 而最终发生T1DM。Engelmann

等<sup>[11]</sup>和Krogvold等<sup>[12]</sup>发现病毒持续感染胰岛β细胞后, 由于病毒抗原的存在, 诱导免疫细胞分泌炎症因子, 介导免疫反应损伤胰岛β细胞, 这可能暴露胰岛β细胞的隐匿抗原, 导致自身免疫反应<sup>[13]</sup>。促进自身免疫反应将持续损伤胰岛β细胞, 最终引发T1DM。

## 3 分子模拟

分子模拟学说认为EV和宿主胰岛β细胞存在相同的氨基酸序列, 形成相同的抗原表位, 从而激活自身免疫T细胞, 诱发交叉免疫反应造成胰岛β细胞损伤。研究<sup>[14]</sup>发现: 某些EV表面抗原和胰岛β细胞的表面抗原存在共同序列或者空间结构, CV结构蛋白VP1与酪氨酸磷酸酶IA-2存在相同序列(即ALTAV), EV非结构蛋白2C(nonstructural protein 2C, P2C)和谷氨酸脱羧酶(glutamic acid decarboxylase, GAD)65存在相同的序列结构(即PEVKEK), P2C蛋白在EV中高度保守, 共有329个氨基酸, 存在T细胞识别的抗原决定簇<sup>[15]</sup>。同时袁凤易等<sup>[16]</sup>研究发现一半以上成年T1DM患者胰岛自身抗体阳性, 谷氨酸脱羧酶抗体(glutamic acid decarboxylase antibody, GADA)阳性率显著高于IA-2A; 胰岛自身抗体总阳性率及GADA阳性率在不同病程中分布有所不同。

但Prasad等<sup>[17-18]</sup>将GAD65509-524-SP, GAD65524-543-SP及IGRP206-214-SP复合体注入到4~5周龄NOD小鼠中, 发现非肥胖性糖尿病(non-obese diabetic, NOD)小鼠的糖尿病发病率并没有降低, 且Schloot等<sup>[19]</sup>将从T1DM患者分离出的GAD65特异性T细胞克隆并不能对同源的CVB-P2C蛋白发生免疫反应, 提示EV非结构P2C和GAD 65存在相同的序列结构并不是EV引起T1DM的主要因素, 但不能排除其起到促进T1DM发生的作用。目前分子模拟是否加速或引起T1DM的发生尚未明确, 但需要记住的是分子模拟并不是引起T1DM发生的唯一因素, 而是协同其他分子机制共同引起胰岛β细胞损伤而导致T1DM的发生。

## 4 旁路激活途径

旁路激活途径, 即T细胞不依赖于T细胞的抗原识别受体识别特异抗原而被激活, 是EV引起β细胞特异性免疫反应的机制之一, 与分子模拟不同的是不依赖抗原识别受体。当胰岛受到持续感染时, 在初始胰岛特异T细胞周围的树突细胞

(dendritic cells, DC)通过模式识别受体自身抗体参与旁路激活途径,并分泌炎症因子如IFN- $\alpha$ 和FGF19<sup>[20-21]</sup>。加速 $\beta$ 细胞损伤。旁路激活途径被认为发生在预先有自身免疫性细胞的组织中,因此旁路激活途径可能发生在自身免疫细胞和自身抗原累积的场所。

Gagnerault等<sup>[22]</sup>发现在NOD小鼠3周时切除胰岛淋巴结(pancreatic lymph node, PLN)可以预防NOD小鼠发生T1DM,而在第10周时切除则没有预防作用,提示PLN可能是发生 $\beta$ 细胞特异性自身免疫反应的场所。Coppieters等<sup>[23]</sup>在人胰岛切片中发现自身免疫CD8<sup>+</sup>T细胞及MHC1高表达,并且CD8<sup>+</sup>可以淋巴结转移到胰岛,但并无证据表明这些自身免疫细胞导致1型糖尿病的发生。Honke等<sup>[24]</sup>发现病毒在DC细胞中可以引起IFN-1受体的抑制因子Usp18表达,IFN分泌减少,从而促进病毒在DC细胞的复制,引起自身免疫反应。NOD小鼠中PLN的DC细胞分泌的IFN-1在T1DM的发生中起重要作用,在NOD小鼠2~3周大时用IFN-1抑制剂阻断IFN-1信号,能显著延缓NOD小鼠发生T1DM<sup>[25]</sup>。当敲除T1DM易感小鼠(LEW.1WR1小鼠)IFN-1受体后能有效防止T1DM的发生,降低胰岛炎的发病率<sup>[26]</sup>,这些发现也就解释了为什么EV引起T1DM患者中不一定都分离出EV。

## 5 表位扩展

急性感染期在胰岛 $\beta$ 细胞内繁殖到病毒对 $\beta$ 细胞造成损伤并引起细胞免疫反应攻击被感染的 $\beta$ 细胞,除FT1DM外, $\beta$ 细胞损伤的程度可能比较轻,当免疫系统可以阻止病毒复制时, $\beta$ 细胞将不再继续丢失。但在这个过程中,抗原递呈细胞(antigen-presenting cell, APC)可能摄取 $\beta$ 细胞碎片,并可能将自身抗原的隐蔽表位传递给机体的自身免疫性淋巴细胞,当外周调节性T细胞功能异常时,表位扩展将引起自身免疫反应,Prasad等<sup>[27]</sup>将Ins-SP复合体注射入4~5周龄NOD小鼠中,发现其能有效降低NOD小鼠糖尿病的发生率,且对Ins B9-23耐受的小鼠能阻止T细胞对特异抗原的免疫,提示在EV感染的过程中,可能释放自身抗原的隐蔽表位,如Ins B9-23,从而引起自身免疫攻击胰岛 $\beta$ 细胞造成T1DM的发生。

## 6 基因

目前已发现超过60个与T1DM发病相关的基

因<sup>[2]</sup>,这些基因并不是单独作用,而是多基因协同,但并没有阐明和病毒感染相关。Smyth等<sup>[28]</sup>发现一个与病毒相关的解旋酶C诱导干扰素结构域蛋白1基因(interferon induced with helicase C domain 1, IFIH1),其编码识别病毒dsRNA的一种螺旋酶,特别是通过其可以分泌IFN1因子抑制柯萨奇病毒的复制,IFIH1基因功能的改变引起对柯萨奇病毒的过度免疫,从而引起T1DM。Bouças等<sup>[29]</sup>研究发现IFIH1的rs1990760多态性与T1DM的发生发展有关,进一步说明IFIH1和T1DM的相关性。当胰岛细胞受到CVB4感染后,信号转导及转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)的表达增加<sup>[30]</sup>。

## 7 T1DM的预防

流行病学和实验数据<sup>[31]</sup>显示病毒感染虽能够引起T1DM,但也可以阻止T1DM,称之为“卫生假说”(hygiene hypothesis)。病毒在何种情况下防止发生T1DM及其机制尚不清楚。Filippi等<sup>[32]</sup>将柯萨奇病毒B组3型(coxsackievirus B3, CB3)感染T1DM NOD小鼠,发现CB3可以激活两条保护途径以防止T1DM的发生,即上调程序性死亡配体1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)和增加CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞的数量。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性T细胞主要功能是调节外周免疫耐受,从而防止T1DM发生<sup>[33]</sup>。整合PD-L1和CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞可以预防1型糖尿病的发生。Granados等<sup>[34]</sup>在新发的T1DM患者中发现T细胞PD-1表达水平降低。Pauken等<sup>[35]</sup>发现PD-1可以抑制自身免疫T细胞在胰岛的浸润。同时,视黄酸诱导基因蛋白I(retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)和黑色素瘤分化相关基因5(melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)的无功能突变有助于防止T1DM的发生<sup>[36]</sup>。同时Morse等<sup>[37]</sup>发现MAD5受体表达降低可以防止T1DM的发生。

## 8 结语

目前上述机制是否加速或引起T1DM尚未明确,但这些机制都不是引起T1DM的唯一因素,多种分子机制协同引起胰岛细胞损伤,最终导致T1DM的发生。每种机制可能作用于T1DM发生的不同阶段,因此也难以确定何种途径引起胰岛 $\beta$ 细胞损伤,EV甚至可以防止胰岛 $\beta$ 细胞损伤,从而阻止T1DM的发生。分子模拟、旁路激活途径和表

位扩展可以解释胰岛中并不总是可以检测出EV的原因。这些机制都可以引起或者促进T1DM的发生发展,在研究EV和T1DM的关系时,研究者可以将目光转向EV如何作用于胰岛细胞表面受体(如MADS和TLR3)而改变机体内的免疫耐受状态,诱发自身免疫,损伤胰岛β细胞,引起T1DM。研究抗糖尿病的EV疫苗亦非常有意义<sup>[38]</sup>。但现在没有任何动物模型可以综合所有机制,这也是目前研究胰岛β细胞损伤的分子机制所需要解决的主要问题之一。

## 参考文献

1. Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes[J]. *Nature*, 2010, 464(7293): 1293-1300.
2. Bakay M, Pandey R, Hakonarson H. Genes involved in type 1 diabetes: an update[J]. *Genes (Basel)*, 2013, 4(3): 499-521.
3. Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, et al. Concordance for islet autoimmunity among monozygotic twins[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(26): 2849-2850.
4. Bodansky HJ, Staines A, Stephenson C, et al. Evidence for an environmental effect in the aetiology of insulin dependent diabetes in a transmigratory population[J]. *BMJ*, 1992, 304(6833): 1020-1022.
5. Yoon JW, Austin M, Onodera T, et al. Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis[J]. *N Engl J Med*, 1979, 300(21): 1173-1179.
6. Krogvold L, Edwin B, Buanes T, et al. Detection of a low-grade enteroviral infection in the islets of langerhans of living patients newly diagnosed with type 1 diabetes[J]. *Diabetes*, 2015, 64(5): 1682-1687.
7. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, et al. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study[J]. *Lancet*, 2009, 373(9680): 2027-2033.
8. Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, et al. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. Osaka IDDM Study Group[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(5): 301-307.
9. Imagawa A, Hanafusa T, Uchigata Y, et al. Fulminant type 1 diabetes: a nationwide survey in Japan[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(8): 2345-2352.
10. Tanaka S, Aida K, Nishida Y, et al. Pathophysiological mechanisms involving aggressive islet cell destruction in fulminant type 1 diabetes[J]. *Endocr J*, 2013, 60(7): 837-845.
11. Engelmann I, Alidjinou EK, Bertin A, et al. Persistent coxsackievirus B4 infection induces microRNA dysregulation in human pancreatic cells[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(20): 3851-3861.
12. Krogvold L, Edwin B, Buanes T, et al. Detection of a low-grade enteroviral infection in the islets of langerhans of living patients newly diagnosed with type 1 diabetes[J]. *Diabetes*, 2015, 64(5): 1682-1687.
13. Alidjinou EK, Engelmann I, Bossu J, et al. Persistence of Coxsackievirus B4 in pancreatic ductal-like cells results in cellular and viral changes[J]. *Virulence*, 2017, 8(7): 1229-1244.
14. Härkönen T, Lankinen H, Davydova B, et al. Enterovirus infection can induce immune responses that cross-react with β-cell autoantigen tyrosine phosphatase IA-2/IAR[J]. *J Med Virol*, 2002, 66(3): 340-350.
15. Atkinson MA, Bowman MA, Campbell L, et al. Cellular immunity to a determinant common to glutamate decarboxylase and coxsackie virus in insulin-dependent diabetes[J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(5): 2125-2159.
16. 袁凤易, 李生中, 刘莉, 等. 1型糖尿病胰岛自身抗体阳性率及其与病程的关系[J]. *广东医学*, 2018, 39(3): 368-372.
17. YUAN Fengyi, LI Shengzhong, LIU Li, et al. The prevalence of islet autoantibodies in type 1 diabetes mellitus and its association with disease duration[J]. *Guangdong Medical Journal*, 2018, 39(3): 368-372.
17. Prasad S, Kohm AP, McMahon JS, et al. Pathogenesis of NOD diabetes is initiated by reactivity to the insulin B chain 9-23 epitope and involves functional epitope spreading[J]. *J Autoimmun*, 2012, 39(4): 347-353.
18. Prasad S, Neef T, Xu D, et al. Tolerogenic Ag-PLG nanoparticles induce tregs to suppress activated diabetogenic CD4 and CD8 T cells[J]. *J. Autoimmun*, 2018, 89: 112-124.
19. Schloot NC, Willemsen SJ, Duinkerken G, et al. Molecular mimicry in type 1 diabetes mellitus revisited: T-cell clones to GAD65 peptides with sequence homology to Coxsackie or proinsulin peptides do not crossreact with homologous counterpart[J]. *Hum Immunol*, 2001, 62(4): 299-309.
20. Diana J, Simoni Y, Furio L, et al. Crosstalk between neutrophils, B-1a cells and plasmacytoid dendritic cells initiates autoimmune diabetes[J]. *Nat Med*, 2013, 19(1): 65-73.
21. 焦延延, 姜威. FGF19与糖尿病炎症反应和氧化应激的相关研究[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(3): 623-627.
22. JIAO Yanyan, JIANG Wei. Research on the association of fibroblast growth factor 19 with oxidative stress and inflammation of diabetes mellitus[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(3): 623-627.
22. Gagnerault MC, Luan JJ, Lotton C, et al. Pancreatic lymph nodes are required for priming of beta cell reactive T cells in NOD mice[J]. *J Exp Med*, 2002, 196(3): 369-377.
23. Coppieters KT, Dotta F, Amirian N, et al. Demonstration of islet-autoreactive CD8 T cells in insulinitic lesions from recent onset and long-term type 1 diabetes patients[J]. *J Exp Med*, 2012, 209(1): 51-60.

24. Honke N, Shaabani N, Zhang DE, et al. Usp18 driven enforced viral replication in dendritic cells contributes to break of immunological tolerance in autoimmune diabetes[J]. PLoS Pathog, 2013, 9(10): e1003650.
25. Li Q, Xu B, Michie SA, et al. Interferon-alpha initiates type 1 diabetes in nonobese diabetic mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(34): 12439-12444.
26. Qaisar N, Lin S, Ryan G, et al. A critical role for the type I interferon receptor in virus-induced autoimmune diabetes in rats[J]. Diabetes, 2017, 66(1): 145-157.
27. Prasad S, Kohm AP, McMahon JS, et al. Pathogenesis of NOD diabetes is initiated by reactivity to the insulin B chain 9-23 epitope and involves functional epitope spreading[J]. J Autoimmun, 2012, 39(4): 347-353.
28. Smyth DJ, Cooper JD, Bailey R, et al. A genome-wide association study of nonsynonymous SNPs identifies a type 1 diabetes locus in the interferon-induced helicase (IFIH1) region[J]. Nat Genet, 2006, 38(6): 617-619.
29. Bouças AP, Brondani LA, Souza BM, et al. The A allele of the rs1990760 polymorphism in the IFIH1 gene is associated with protection for arterial hypertension in type 1 diabetic patients and with expression of this gene in human mononuclear cells[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e83451.
30. Nyalwidhe JO, Gallagher GR, Glenn LM, et al. Coxsackievirus-induced proteomic alterations in primary human islets provide insights for the etiology of diabetes[J]. J Endocr Soc, 2017, 1(10): 1272-1286.
31. Kondrashova A1, Seiskari T, Ilonen J, et al. The 'Hygiene hypothesis' and the sharp gradient in the incidence of autoimmune and allergic diseases between Russian Karelia and Finland[J]. APMIS, 2013, 121(6): 478-493.
32. Filippi CM, Estes EA, Oldham JE, et al. Immunoregulatory mechanisms triggered by viral infections protect from type 1 diabetes in mice[J]. J Clin Invest, 2009, 119(6): 1515-1523.
33. Filippi C, Bresson D, von Herrath M. Antigen-specific induction of regulatory T cells for type 1 diabetes therapy[J]. Int Rev Immunol, 2005, 24(5/6): 341-360.
34. Granados HM, Draghi A 2nd, Tsurutani N, et al. Programmed cell death-1, PD-1, is dysregulated in T cells from children with new onset type 1 diabetes[J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0183887
35. Pauken KE, Jenkins MK, Azuma M, et al. PD-1, but not PD-L1, expressed by islet-reactive CD4+ T cells suppresses infiltration of the pancreas during type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2013, 62(8): 2859-2869.
36. Shigemoto T, Kageyama M, Hirai R, et al. Identification of loss of function mutations in human genes encoding RIG-I and MDA5: implications for resistance to type I diabetes[J]. J Biol Chem, 2009, 284(20): 13348-13354.
37. Morse ZJ, Horwitz MS. Innate viral receptor signaling determines type 1 diabetes onset[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2017, 8: 249.
38. Stone VM, Hankaniemi MM, Svedin E, et al. A Coxsackievirus B vaccine protects against virus-induced diabetes in an experimental mouse model of type 1 diabetes[J]. Diabetologia, 2018, 61(2): 476-481.

本文引用：潘海东, 刘启亮, 郑天鹏. 肠道病毒引起胰岛β细胞损伤的分子机制[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(7): 1562-1566. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.07.033

**Cite this article as:** PAN Haidong, LIU Qiliang, ZHENG Tianpeng. Molecular mechanism of pancreatic β-cell damage induced by enterovirus infection[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(7): 1562-1566. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.07.033