

DENV NS1 and MMP-9 cooperate to induce vascular leakage by altering endothelial cell adhesion and tight junction.

Pan Pan, Geng Li, Miaomiao Shen, Zhenyang Yu, Weiwei Ge, Zizhao Lao, et al.

PLoS Pathog 17(7): e1008603. (2021)

講者：Bo-Cheng Zhang (張伯丞)

時間：13:10-14:00, Apr. 13rd, 2022

講評老師：Dr. Shu-Wen Wan (萬書雯老師)

地點：Room 601

背景 「登革病毒」為一熱帶國家中常見由蚊子傳播的病原體，而被其感染造成的疾病會稱作「登革熱」。一般而言，登革熱在大部分的患者中只會出現類似感冒的症狀，但有小部分的族群會在感染後轉變為較嚴重的「登革出血熱」或是「登革休克症候群」，而這兩者皆會造成「病毒出血熱」以及「血漿滲漏」的症狀。在先前研究中發現，登革病毒可能透過正調控基質金屬蛋白酶9(MMP-9)來誘導「血漿滲漏」的發生¹，而其中MMP-9的功能已被發現會去分解細胞外基質²。此外，登革病毒非結構性蛋白一(NS1)是目前已知在感染期間唯一會持續分泌到血液中的病毒蛋白，而近期文獻發現NS1會去參與內皮細胞透過細胞自嗜介導造成的細胞接合破壞以及血管滲漏³。然而，至今對於登革病毒誘導發生「血漿滲漏」的致病機轉尚不清楚。因此在本篇研究中，作者想要去探討NS1與MMP-9在登革病毒誘導「血漿滲漏」的致病機轉中兩者扮演的關係。

方法 作者首先利用不同的細胞品系(HEK293T/THP1/293T/HUVEC)去共同轉染HA-NS1以及Flag-MMP-9兩個質體，並且利用免疫沉澱方法來測定NS1和MMP-9蛋白之間的交互作用。另外，作者建立一套trans-well的系統，其利用伏特計測量內皮細胞間電阻的方式，來評估NS1和MMP-9在調節內皮細胞通透性功能的變化。接著，作者建立出MMP-9缺陷的老鼠模型來觀察NS1和MMP-9在活體中兩者之間誘導的狀況。最後，作者利用Evans blue染劑來評估小鼠組織中「血漿滲漏」的情形。其中，作者利用免疫螢光顯微觀察、逆轉錄聚合酶鏈反應以及酵素連結免疫吸附分析法……等相關實驗來測定NS1和MMP-9在登革病毒感染下的表達量。

結果 作者首先注意到在登革病毒感染下，患者血清中NS1和MMP-9量的多寡會與病情嚴重程度呈現正相關。另外，作者發現NS1和MMP-9兩種蛋白會直接進行相互作用。接著，作者進一步表明NS1會通過NFκB訊號傳遞路徑來促進MMP-9的表現，以及調節MMP-9酵素的活性。此外，作者發現在登革病毒感染下，THP-1細胞會誘導MMP-9的分泌，從而促進人類臍帶內皮細胞間或是老鼠組織內皮細胞間的通透性增加。最後，作者證實NS1會募集MMP-9去破壞內皮細胞間的黏附/連結蛋白，以致最終造成「血漿滲漏」病狀的發生。

結論 這篇研究揭示登革病毒造成「血漿滲漏」的致病機轉，其關鍵機制是NS1會協調MMP-9去誘導內皮細胞間黏附/連結蛋白的破壞，進而增加內皮細胞間的通透性來造成「血漿滲漏」的發生。因此，這篇研究提供「登革出血熱」或是「登革休克症候群」患者一個潛在的治療性標靶，用來治療患者「血漿滲漏」的症狀。

References

1. Luplertlop N, Misse´ D, Bray D, Deleuze V, et al. Dengue-virus infected dendritic cells trigger vascular leakage through metalloproteinase overproduction. *EMBO Rep* 2006; 7(11):1176–81.
2. Vandooren J, Van den Steen PE, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9): the next decade. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2013; 48(3):222–72.
3. Chen HR, Chuang YC, Lin YS, Liu, et al. Dengue virus nonstructural protein 1 induces Vascular Leakage through Macrophage Migration Inhibitory Factor and Autophagy. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10(7): e0004828.