

## 針對腸病毒的 RNA 干擾抑制蛋白設計胜肽藥物能有效保護小鼠

論文：Yuan F et al. Inhibition of viral suppressor of RNAi proteins by designer peptides protects from enteroviral infection in vivo. *Immunity* 54, 2231-2244 (2021)

報告者：張淳瑜

時間：15:10-16:00, March. 16, 2022

講評老師：蕭瓊莉教授

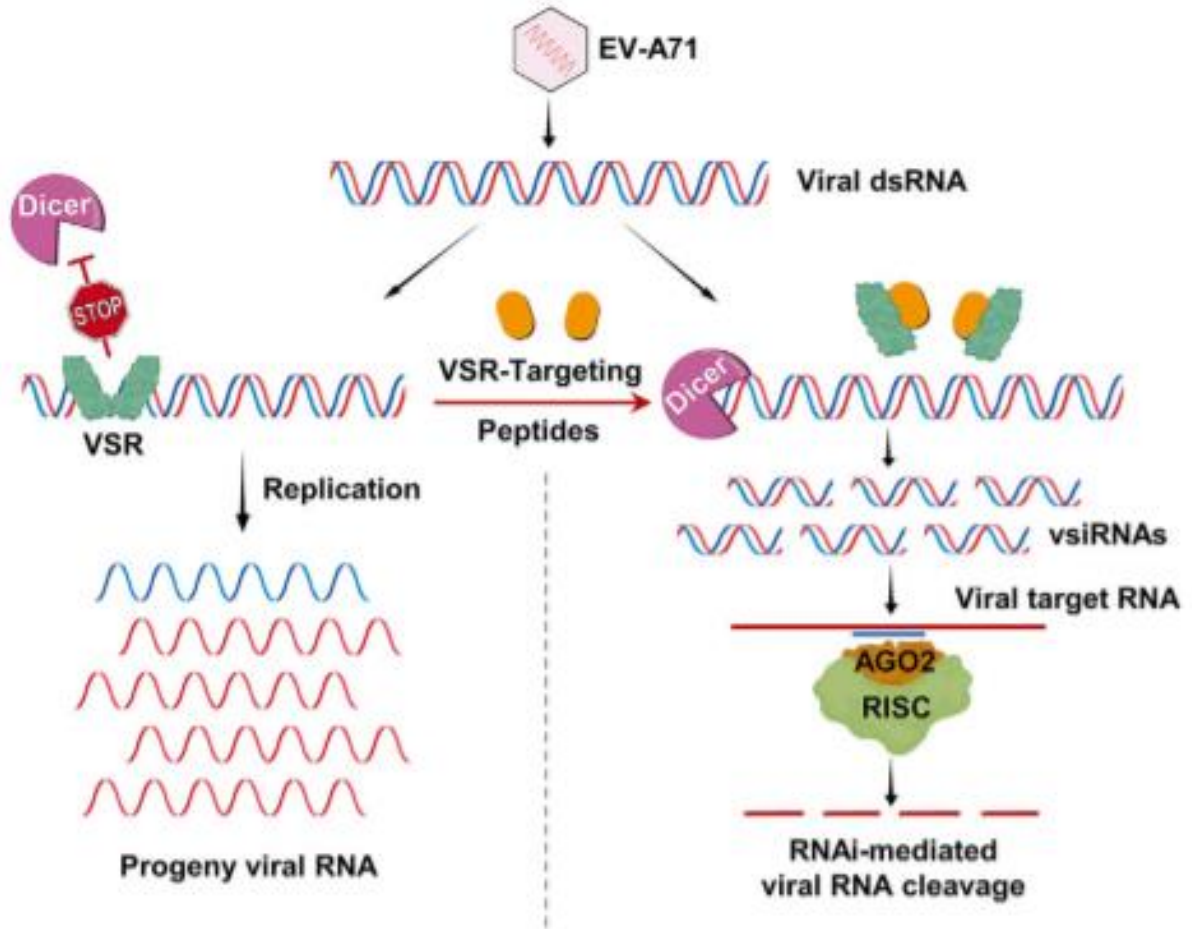
地點：Room 601

摘要：RNA 干擾機制是真核細胞中針對病毒感染的免疫機制，細胞中的 Dicer 會辨識並切割病毒複製中產生的雙股 RNA，產生大小約 22 個核苷酸的小片段病毒 siRNA，接著 RNA induced silencing complex 會利用 AGO 蛋白和 siRNA 結合，並且藉由 siRNA 引導到序列互補的病毒 RNA 進行破壞和切割，藉此抑制病毒在細胞中的複製和感染。然而許多的病毒，包括腸病毒、流感病毒、冠狀病毒和登革病毒的蛋白都被發現具有抑制 Dicer 產生 siRNA 的能力，這些蛋白又被稱為 Viral suppressor of RNAi (VSR)。在作者們先前的研究中，他們發現 3A 聚合位的序列突變不只能干擾蛋白的雙聚化，還能剝奪 3A 蛋白抑制 Dicer 的活性，因此作者認為針對這些蛋白質設計藥物來回復細胞原有的 RNA 干擾免疫反應，理論上能發揮對抗病毒感染的治療效果，作為藥物開發的標的。

在本篇研究的結果中，作者針對腸病毒非結構蛋白中的 3A 蛋白，設計了針對負責做為雙聚化結合位的 alpha 1 螺旋的胜肽片段並且加上 TAT 片段後進行解構的修改，如此一來產出一個具有高穩定性且能穿過血腦障壁的藥物 ER-DRI，來有效抑制 3A 蛋白的雙聚化，使原本被 3A 蛋白抑制的 Dicer 重新作用，產生病毒 siRNA，開啟 RNA 干擾的免疫反應。

在細胞和小鼠動物實驗中，發現 ER-DRI 在細胞中能有效抑制病毒的複製並且細胞毒性低，且透過 deep RNA sequencing 針對小片段的腸病毒 RNA 作分析，能發現 ER-DRI 的治療顯著的增加了 22 個核苷酸大小的病毒 siRNA，並且透過北方墨點法和免疫沉澱法都能發現這些 siRNA 能和 AGO 蛋白結合在一起進行 RNA 干擾反應，減少細胞和小鼠組織中的病毒 RNA。動物實驗中，在感染後兩小時給予 ER-DRI 的治療能顯著增加 EV-A71 感染小鼠的存活率並降低病理指數，顯示 ER-DRI 在活體中依然能有效地透過活化 RNA 干擾反應來抑制病毒的複製和感染。不僅如此，作者也比對了腸病毒 3A 蛋白的 alpha 1 和 2 螺旋的序列的相似性，發現包含克沙奇病毒 A 的 A 型腸病毒 3A 序列結構高度相似，因此 ER-DRI 有潛力能發揮廣效抑制腸病毒感染的效用。

由於 ER-DRI 具有高溫穩定性和對 Trypsin 及 proteinase 這些腸胃道酵素的抗性，因此作者可能在未來會針對給藥途徑做更多的測試和優化。另外，針對 RNA 干擾的策略在未來也有機會應用到其他病毒藥物的開發上，因此 RNA 干擾機制和病毒間的互動，以及和其他免疫反應，例如干擾素訊息路徑之間的相互調控，相信都會有更多研究投入，幫助尋找新的藥物標的，促進抗病毒藥物的研發和改良。



**參考資料：**

1. Maillard, V *et al.*, *EMBO J* 38, 2019
2. Qiu Y *et al.*, *Immunity* 46, 992–1004, 2017

