

自噬在小RNA病毒感染中的作用

周 珊 程安春* 汪铭书*

(四川农业大学动物医学院, 预防兽医研究所, 禽病防治研究中心, 动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 成都 611130)

摘要 自噬是真核细胞所特有的一种高度保守的经溶酶体途径降解细胞内错误折叠或多余蛋白质、受损细胞器、胞内病原体的细胞代谢过程。小RNA病毒脱壳感染细胞时, 快速激活自噬途径, 诱导形成大量双层膜结构的自噬体。自噬能激活细胞表面的模式识别受体以及干扰素途径, 增强组织相容性复合物对病毒抗原的提呈作用, 发挥抑制小RNA病毒感染的天然免疫功能; 此外, 自噬体为小RNA病毒提供复制相关蛋白质和非细胞裂解性释放途径, 促进感染细胞的胞内、胞外出现更多成熟的小RNA病毒粒子。该文对细胞自噬与小RNA病毒感染的研究概况与进展作一综述, 为进一步开展解析不同小RNA病毒感染与自噬发生的时间、空间等的关系及阐明自噬作用于小RNA病毒感染的分子机制等研究提供参考。

关键词 自噬; 小RNA病毒; 病毒复制

The Autophagy in Picornavirus Infection

Zhou Shan, Cheng Anchun*, Wang Mingshu*

(Avian Disease Research Center; College of Veterinary Medicine, Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Institute of Preventive Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract Autophagy, a highly conserved lysosomal pathway in eukaryotic cells, is responsible for the degradation of intracellular misfolded or redundant proteins, damaged organelles and intracellular pathogens. The picornaviruses uncoating infection rapidly induces autophagy, which further activates the formation of substantial autophagosomes. Autophagy, as an innate antiviral immune pathway, can promote cell surface pattern recognition receptors and interferon pathway, and enhances presentation effect of major histocompatibility complex on virus antigens to inhibit picornavirus infection and replication. In addition, given that autophagosome provides picornavirus replication protease and autophagosome-mediated exit without lysis, autophagy can enhance intracellular and extracellular virus production via promoting picornavirus genome duplication and progeny virion release. This review concludes the role of autophagy on picornavirus replication, in order to support certain basis for analyzing the relationship between the infection of different picornavirus and the time and space of autophagy, and illustrating molecular mechanism of autophagy in picornavirus infection.

Keywords autophagy; picornavirus; virus replication

小RNA病毒科(picornavirus)病毒作为一个古老且多变的病毒家族, 是自然界中普遍存在的一类动物病毒。根据其物理特性及基因组结构差异可分为35个属, 主要包括肠道病毒属、口蹄疫病

收稿日期: 2017-06-21

接受日期: 2017-09-18

国家自然科学基金(批准号: 31472223)和国家现代农业(水禽)产业技术体系专项(批准号: CARS-42-17)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0835-2882918, E-mail: chenganchun@vip.163.com; mshwang@163.com

Received: June 21, 2017

Accepted: September 18, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31472223) and the National Modern Agriculture Industrial Technology System (Grant No.CARS-42-17)

*Corresponding authors. Tel: +86-835-2882918, E-mail: chenganchun@vip.163.com; mshwang@163.com

网络出版时间: 2017-12-04 12:25:08

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20171204.1225.026.html>

病毒属、心病毒属和肝炎病毒属等,以脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)、柯萨奇病毒(coxsackievirus, CV)、肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)、人鼻病毒(human rhinovirus, HRV)、脑心肌炎病毒(encephalomyocarditis virus, EMCV)、口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease virus, FMDV)和甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)为典型^[1]。小RNA病毒基因组为单股正链RNA,这条RNA在细胞翻译系统的指导下合成一条无活性的多聚蛋白质前体,经多级裂解最终形成病毒结构蛋白(P1区)和非结构蛋白(P2、P3区)。P1区编码VP0、VP1、VP3三种衣壳蛋白, P2区编码2A、2B、2C蛋白质, P3区编码3A、3B、3C和3D蛋白质^[2]。

自噬(autophagy)是真核细胞内一种自食(self-eating)的现象,指细胞在自噬相关基因(autophagy associated gene, ATG)的调控下,利用双层膜包裹需降解的细胞器、蛋白质等形成自噬体,最终与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物,以实现细胞稳态和细胞器的更新^[3]。细胞在正常生理状态下,自噬水平较低;病毒等微生物入侵,可快速激活细胞自噬途径^[4-6]。因此,自噬是一种识别并清除病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的细胞内途径,抑制病毒基因组复制增殖,减少子代病毒粒子的产生,降低病毒粒子的传播能力。同时,自噬能为病毒提供感染复制的场所、条件以及释放途径,从而促进病毒的感染复制以及释放,辅助病毒持续性感染宿主^[7-9]。本文综述了细胞自噬与小RNA病毒感染的研究概况,阐述了细胞自噬在小RNA病毒感染过程中发挥的作用。

1 小RNA病毒感染激活细胞自噬

小RNA病毒感染细胞时,快速激活自噬途径,细胞内膜发生改变,出现大量自噬体双层囊泡结构,自噬标志蛋白质微管相关蛋白1轻链3(microtubule associated protein 1 light chain 3, MAP1LC3, LC3)发生点状聚集,并由胞浆型LC3-I酯化为膜结合形式的LC3-II, LC3-II与溶酶体相关膜蛋白1(lysosome-associated membrane protein type 1, LAMP-1)发生共定位,表明小RNA病毒能诱导完整的自噬及自噬流^[5,7,10-11]。瞬时转染小RNA病毒蛋白、LC3和ATG5的真核表达载体时,蛋白质共定位现象表明,小RNA

病毒蛋白质参与诱导自噬^[5,10-12]。

1.1 结构蛋白质诱导自噬

小RNA病毒的结构蛋白质能快速激活自噬途径,目前报道最多的是VP1蛋白质。例如,研究表明,共转染LC3和EV71 VP1的真核表达载体时,自噬标志蛋白质LC3发生明显的点状聚集现象,并由LC3-I酯化为LC3-II, LC3-II与VP1发生共定位,而对照组无明显变化,表明EV71 VP1能够诱导细胞自噬^[6,12-13]。Zhang等^[7]发现,EMCV感染BHK-21细胞后,LC3和EMCV VP1的抗体进行免疫荧光双标实验,LC3与VP1能够共定位于自噬体的膜结构,表明EMCV VP1具有诱导自噬的功能。FMDV感染时,内源性LC3发生重排并聚集于细胞核周围,电镜观察到细胞内出现大量双层囊泡结构的自噬体,而敲低ATG5的细胞内没有LC3重排和聚集现象,也没有自噬体结构^[4]。FMDV VP1和LC3的抗体检测FMDV感染的细胞时,发现VP1和LC3蛋白质水平显著增多,大量LC3发生酯化,表明FMDV VP1经ATG5途径诱导自噬发生^[4]。小RNA病毒的其他结构蛋白质组分是否参与自噬有待进一步研究。

1.2 非结构蛋白质诱导自噬

小RNA病毒的多种非结构蛋白质也能激活细胞自噬途径,但是不同的小RNA病毒略有差异。Taylor等^[10]在细胞内表达PV的2B、2C和3A蛋白质时,LC3发生酯化,产生大量自噬体结构,自噬程度伴随PV非结构蛋白质水平增高而增强,表明PV 2B、2C和3A能快速上调自噬途径。柯萨奇病毒B3(coxsackievirus B3, CVB3)的2B蛋白质利用跨膜输水序列诱导自噬发生,促进自噬小体积累^[5,11];柯萨奇病毒B4(CVB4)则以一种钙蛋白酶(calpain)依赖方式来诱导细胞自噬,引起LC3脂质和自噬小体的积累^[14]。EMCV感染时,3A蛋白质与细胞内LC3共定位,诱导生成大量的自噬体样双层囊泡结构;2C、3D蛋白质的转录和翻译过程通过内质网胁迫(endoplasmic reticulum stress, ER stress)来激活细胞自噬,ER胁迫能促进2C和3D蛋白质的表达,进一步增强其对自噬的诱导作用^[15]。FMDV感染细胞早期,即病毒与细胞表面受体特异性识别并结合时,病毒2B蛋白质便快速上调自噬途径,大量LC3发生点状聚集现象^[4,16]。此外,人鼻病毒2型(human rhinovirus-2, HRV-2)感染诱导LC3-II与磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)结合并锚定于自噬

体双层膜结构上, 该自噬体复合物与LAMP-1发生共定位, 形成自噬溶酶体, 表明HRV-2诱导形成完整的自噬及自噬流^[17], 然而目前尚未见是何种蛋白质诱导自噬的研究报道。

2 自噬抵抗小RNA病毒感染

自噬是细胞内抵抗小RNA病毒感染的固有防线。自噬一方面激活细胞表面模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)和干扰素(interferon, IFN)介导的先天性免疫应答^[18-19]以及组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)诱导产生的T细胞介导的获得性免疫应答^[20-21], 抑制病毒感染复制, 减少进入自噬溶酶体的病原; 另一方面降解已经进入自噬溶酶体内的病原^[3], 形成一种宿主抵抗小RNA病毒感染的保护机制(图1)。

2.1 自噬激活抗病毒PRRs及IFN

自噬是传统PRRs的效应器, 能增强其抗微生物屏障功能^[18]。PRRs包括Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)和视黄酸诱导基因1样受体[retinoic acid-inducible gene-1(RIG-I)-like receptors, RLRs]等。TLRs是细胞膜和细胞质膜上主要的PRRs, 能够识别广泛的PAMPs, 激活先天免疫效应^[22]。自噬将胞内小RNA病毒等微生物源性的PAMPs运输至溶酶体内腔, 激活TLRs信号并刺激TLRs介导的天然免疫效应^[22-23]。其中, Toll样受体7(Toll-like receptor 7, TLR7)特异性识别单链

RNA, 使得自噬途径靶向降解小RNA病毒核酸^[18]。Toll样受体3(Toll-like receptor 3, TLR3)激活TLR3/TICAM-1(Toll/IL-1R homology domain-containing adaptor molecule 1)途径, 从而产生抵抗PV的I型特异性IFN, 发挥宿主天然免疫效应^[23]。因此, 自噬与PRRs启动的天然抗病毒效应相互促进, 放大抗病毒反应。

自噬发生时, 自噬复合体ATG5-ATG12活化RLRs通路中的关键接头蛋白RIG-I、TBK1、TRAF3和TRAF6, 从而激活干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF), 诱导产生大量I型干扰素(type I interferon, I-IFN)^[24]。IFN能促进胞内的小RNA病毒感受器识别小RNA病毒的感染信号, 干扰小RNA病毒的感染复制与细胞间传播, 阻止病原体进入自噬溶酶体, 形成天然的抗病毒保护机制^[24-26]。FMDV感染时, 一方面, ATG5-ATG12抑制病毒基因转录、翻译以及病毒粒子的释放过程, 减少FMDV的细胞病变效应; 另一方面, ATG5-ATG12抑制TRAF3的降解, 促进TBK1磷酸化并活化IRF3, 使得细胞内产生大量的I-IFN(IFN- α/β), 导致病毒衣壳蛋白质VP0和VP3的表达受到抑制, 病毒粒子释放量减少, 病毒传播能力降低^[24,27]; 此外, ATG5-ATG12还能抑制FMDV对双链RNA依赖的蛋白激酶(double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR)的降解, 促进PKR的表达, 并通过高水平表达的PKR来促进IKK α/β 磷酸

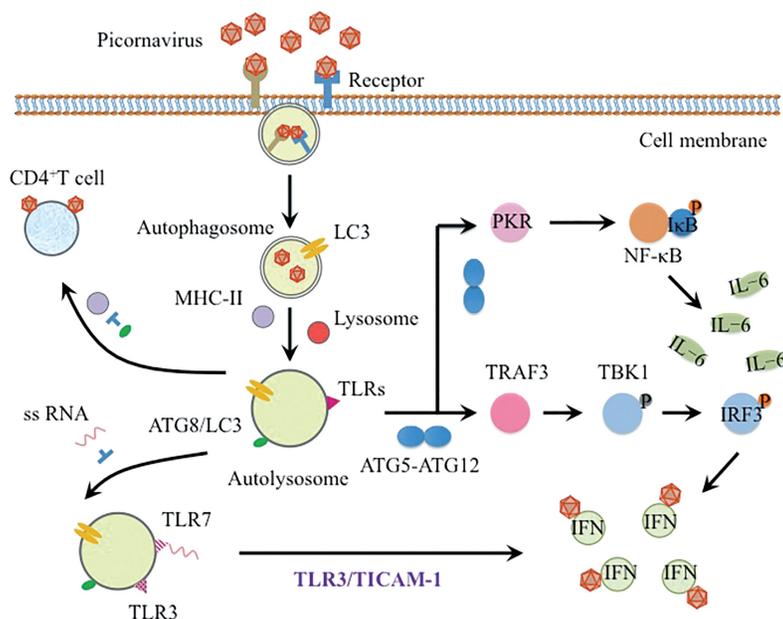


图1 自噬抑制小RNA病毒复制(根据参考文献[24,34,40]修改)

Fig.1 Autophagy inhibits the replication of picornavirus (modified from references [24,34,40])

化、核因子p65核定位,和上调核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路,降解NF- κ B的抑制蛋白(inhibitor of NF- κ B, I κ B),诱导产生大量细胞因子白介素6(interleukin-6, IL-6),导致FMDV基因组的复制受到抑制,病毒RNA水平降低,病毒产量下降,病毒特异性细胞病变减少^[24]。自噬还能通过降解自噬特异性降解的底物,即SQSTM1/p62(sequestosome 1)蛋白质来激活并补充NF- κ B信号通路,诱导产生抵抗病毒感染的IL-6、IL-1 β 。CVB3感染时,病毒蛋白酶2A^{pro}促进自噬途径大量降解SQSTM1蛋白质,低水平的SQSTM1能激活并补充NF- κ B信号通路,促进产生大量III-IFN和IL-6,从而抑制CVB3感染复制^[28-29]。外源引入的IFN和IL-6也能干扰PV和EV71的感染复制,但是目前尚未见自噬激活IFN和IL来抑制PV和EV71的研究报道^[25,29-30]。

2.2 自噬增强病毒抗原提呈作用

MHC分子分为MHC-I和MHC-II两类,正常情况下MHC-I类分子提呈胞质中降解的内源性抗原,活化CD8⁺T细胞;MHC-II类分子提呈外源性抗原肽,活化CD4⁺T细胞^[20,31]。自噬发生时,LC3B的N-端与自噬囊泡融合,激活病毒介导的MHC-II抗原提呈作用,刺激产生大量的CD4⁺T细胞;当LC3相关吞噬(LC3-associated phagocytosis, LAP)膜上的LC3B裂解后,LAP与MHC-II融合并利用MHC-II来促进自噬溶酶体的形成^[32-34];吞噬病毒抗原的阳性吞噬体ATG8/LC3从吞噬体膜上解偶联下来并与溶酶体发生融合时,ATG8/LC3储存的抗原由此传递给MHC-II类分子加工处理,刺激产生CD4⁺T细胞^[20,34]。因此,自噬能增强MHC-II的病毒抗原提呈作用。

CVB3感染后,病毒的2B、2C和3A蛋白质共同抑制感染细胞内的蛋白质运输从而快速下调MHC-I类分子,使得MHC-I产生CD8⁺T细胞的数量减少;还能诱导细胞自噬,促进ATG8/LC3阳性吞噬体吞噬CVB3并传递给MHC-II类分子,刺激MHC-II大量产生CVB3特异性CD4⁺T细胞,长期靶向降解CVB3^[5,20,31]。CVB4感染后,以一种依赖钙蛋白酶的方式来诱导自噬发生,增强MHC-II的抗原提呈作用,刺激产生CD4⁺T细胞,但是CVB4特异性CD4⁺T细胞的产生主要依赖于含有T细胞抗原表位的VP1,这些CD4⁺T细胞只能在短时间内靶向抗病毒作用^[14,32,35]。

PV感染后,病毒的3A蛋白质能直接抑制MHC-I的抗原提呈作用,降低CD8⁺T细胞的活性,从而逃避

CD8⁺T细胞的免疫应答^[36];还能诱导自噬发生,活化自噬体形成的必要途径,即ATG5途径^[10]。ATG5途径可增强MHC-II对病毒抗原的提呈作用,刺激产生CD4⁺T细胞,并促进该细胞产生病毒特异性IFN- γ ,靶向作用于病毒VP2结构蛋白质,从而降解感染性病毒^[37-38]。同时,自噬体膜包裹PV的结构成分并将其降解为小肽或小分子物质,自噬途径将这些小肽或小分子物质加工处理后,提呈给MHC-II类分子,刺激巨噬细胞产生大量PV特异性的CD4⁺T细胞^[23,32]。这些CD4⁺T细胞跟普通的记忆T细胞一样具有长期性的记忆,能够长时间地识别病毒抗原,发挥抗PV功能;特异性CD4⁺T细胞促进产生IFN- γ 和PV特异性抗体,进一步发挥抑制PV感染的作用^[39]。

3 自噬促进小RNA病毒复制

自噬在小RNA病毒感染复制中扮演双重角色,不仅能抑制小RNA病毒复制,还能在其生命周期的各个阶段发挥重要作用,具有促进小RNA病毒复制增殖的功能。一方面,ATG5介导自噬细胞分化形成的细胞外微泡(extracellular microvesicles, EMVs)包裹小RNA病毒,为小RNA病毒提供复制场所与复制相关蛋白质^[41];另一方面,自噬促进小RNA病毒基因组的复制及子代病毒粒子的成熟与释放过程^[41-43](图2)。

3.1 自噬促进小RNA病毒基因组复制

自噬激活时,自噬体的双层囊泡结构不断延伸并包裹CVB3,ATG5介导自噬细胞开始迁移并分化形成藏匿CVB3的EMVs,为该病毒感染复制以及逃避宿主免疫提供了安全囊腔^[38,44]。CVB3能抑制自噬体与溶酶体融合,防止溶酶体对自噬体及其内容物的降解,间接导致了自噬体与亲代病毒粒子的积累,为子代病毒粒子的复制提供复制场所及模板。研究表明,成熟溶酶体内含有特异性识别并参与结合单链RNA的TLR7,而CVB3能阻止自噬体与溶酶体结合形成自噬溶酶体的过程^[7,22,45]。因此,自噬能为CVB3提供逃逸宿主降解的保护途径,间接促进小RNA病毒的感染复制。

ATG13参与诱导CVB3、CVA和EV71等小RNA病毒基因组的复制,然而机制略有不同。电子显微镜观察到细胞质膜是所有真核细胞的正链RNA病毒的复制场所^[46-47],而自噬细胞分化形成的EMVs膜结构上有小RNA病毒复制蛋白酶,可见EMVs是小RNA病毒的复制场所^[38]。此外,自噬能通过LC3蛋

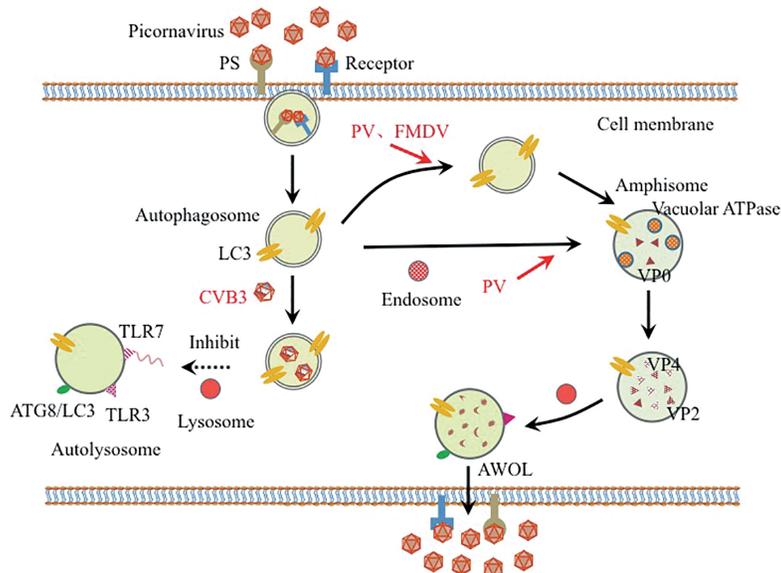


图2 自噬促进小RNA病毒复制(根据参考文献[40,49]修改)

Fig.2 Autophagy activates the replication of picornavirus (modified from references [40,49])

白质聚合病毒复制蛋白酶来促进PV感染复制。共转染和免疫荧光检测表明, PV和FMDV的复制相关蛋白质3A与LC3发生共定位, 可见3A等参与PV和FMDV复制相关蛋白质具有识别并黏附LC3的作用^[10,48]。自噬途径激活时, 产生大量自噬体双层囊泡结构, 自噬体内LC3大量表达, 由LC3-I酯化为LC3-II, PV和FMDV的复制相关蛋白质与LC3-II发生聚合, 导致自噬特征性双层结构中检测到PV和FMDV的复制相关蛋白质3A^[10,48], 说明自噬增强了PV、FMDV 3A等复制相关蛋白质作用。其中, LC3不参与病毒复制, 只是推动了子代病毒粒子的成熟过程^[42]。

3.2 自噬促进小RNA病毒成熟与释放

囊泡酸化对病毒吸附进入、复制翻译以及前体蛋白质的加工过程均无影响, 但能促进新组装的子代PV的衣壳蛋白质裂解, 形成具有感染性的病毒粒子^[42,49]。自噬发生后, 自噬体与内涵体融合, 使得自噬内涵体内充满液泡膜ATP酶, 进而自噬内涵体逐渐发生内部酸化作用^[42,49]。酸化的自噬内涵体环境促进病毒衣壳蛋白质VP0裂解为VP4和VP2, 完成病毒粒子最终的成熟过程, 形成具有病毒感染性的150S病毒粒子^[42]。此外, 氯化铵碱化PV感染后的细胞时, 胞内积累大量VP0, 罕见VP4和VP2, 细胞释放的病毒量也大幅下降^[42]。氯化铵作为自噬的抑制剂, 阻断自噬溶酶体内蛋白酶降解其内容物, 为小RNA病毒的成熟过程提供了场所与时间^[28]。

细胞裂解是传统的病毒释放途径, 然而自噬体介导的非裂解性细胞释放(autophagosome-mediated exit without lysis, AWOL)为PV和CV等肠道病毒提供了新的释放途径^[41]。PV感染细胞时, 非结构蛋白诱导LC3结构流动性增加, 自噬体双层囊泡结构包裹PV^[10], 自噬溶酶体与细胞质膜的融合为成熟病毒粒子提供AWOL释放途径, 使得PV在细胞裂解前就大量释放而出^[43]。Chen等^[50]的研究结果表明, PV、CVB3以及HRV-2等肠道病毒的持续感染、细胞间转移以及诱导自噬均有赖于膜结构上的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)与病毒受体的结合作用, PS丰富的细胞能极大提高成熟病毒粒子的AWOL, 富含PS的自噬体包裹的肠道病毒比自由病毒粒子具有更高的感染效率。对酸性环境敏感的FMDV感染时, 自噬将病毒粒子运输至自噬体内, 防止溶酶体的降解, 病毒经自噬途径复制、组装后再进行胞外释放^[16]。因此, 自噬促进子代病毒粒子的成熟与释放, 细胞裂解不再是释放子代病毒粒子的唯一途径, 使得病毒释放速度显著增加。

4 结语与展望

小RNA病毒感染激活细胞自噬, 自噬既参与抑制病毒感染复制, 又参与促进病毒感染复制。自噬诱导剂激活自噬途径时, 自噬促进病毒感染占主导作用, 为小RNA病毒提供复制酶蛋白3A和AWOL释放途径, 增强小RNA病毒的复制效率与传播能力。

换言之,小RNA病毒利用自噬途径进一步持续感染宿主细胞,破坏细胞周期与细胞活力。但目前未见自噬促进病毒感染和抑制病毒感染作用间的关系的报道,所以,自噬促进小RNA病毒感染占主导作用的原因与机制还不清楚。目前,自噬在TLRs、IFN和MHC等天然抗病毒效应中的作用尚处于基础研究阶段,不同种属的病毒感染诱导自噬时,自噬联合抗病毒效应的机制有待进一步阐明。随着研究的深入,不同的小RNA病毒感染时,自噬参与的抗病毒效应的机制将会更加清楚,对理解机体病理生理过程、抗病毒感染以及天然免疫机制等方面具有重大意义。由于病毒具有特异性,可以推测不同种属的病毒诱导自噬发生的基因不同,自噬对不同病毒感染的作用途径与结果不同,今后研究的重点应该是解析不同小RNA病毒感染与自噬发生的时间、空间等的关系,阐明自噬作用于小RNA病毒感染的分子机制,为小RNA病毒新型疫苗和抗病毒新药的研发提供新思路。

参考文献 (References)

- Asnani M, Kumar P, Hellen CU. Widespread distribution and structural diversity of Type IV IRESs in members of Picornaviridae. *Virology* 2015; 478: 61-74.
- Zhou JH, Gao ZL, Zhang J, Ding YZ, Stipkovits L, Szathmary S, *et al.* The analysis of codon bias of foot-and-mouth disease virus and adaptation of this virus to the hosts. *Infect Genet Evol* 2013; 14: 105-10.
- Wu TT, Li WM, Yao YM. Interactions between autophagy and inhibitory cytokines. *Int J Biol Sci* 2016; 12(7): 884-97.
- Berryman S, Brooks E, Burman A, Hawes P, Roberts R, Netherton C, *et al.* Foot-and-Mouth disease virus induces autophagosomes during cell entry via a class III phosphatidylinositol 3-kinase-independent pathway. *J Virol* 2012; 86(23): 12940-53.
- Wu H, Zhai X, Chen Y, Wang R, Lin L, Chen S, *et al.* Protein 2B of coxsackievirus B3 induces autophagy relying on its transmembrane hydrophobic sequences. *Viruses* 2016; 8(5): 131.
- Fu Y, Xu W, Chen D, Feng C, Zhang L, Wang X, *et al.* Enterovirus 71 induces autophagy by regulating has-miR-30a expression to promote viral replication. *Antiviral Res* 2015; 124: 43-53.
- Zhang Y, Li Z, Ge X, Guo X, Yang H. Autophagy promotes the replication of encephalomyocarditis virus in host cells. *Autophagy* 2011; 7(6): 613-28.
- Sun Y, Yu S, Ding N, Meng C, Meng S, Zhang S, *et al.* Autophagy benefits the replication of new castle disease virus in chicken cells and tissues. *J Virol* 2014; 88(1): 525-37.
- Li C, Fu X, Lin Q, Liu L, Liang H, Huang Z, *et al.* Autophagy promoted infectious kidney and spleen necrosis virus replication and decreased infectious virus yields in CPB cell line. *Fish Shellfish Immunol* 2017; 60: 25-32.
- Taylor MP, Kirkegaard K. Modification of cellular autophagy protein LC3 by poliovirus. *J Virol* 2007; 81(22): 12543-53.
- Shi X, Chen Z, Tang S, Wu F, Xiong S, Dong C. Coxsackievirus B3 infection induces autophagic flux, and autophagosomes are critical for efficient viral replication. *Arch Virol* 2016; 161(8): 2197-205.
- Lai J, Sam IC, Verlhac P, Baguet J, Eskelinen EL, Faure M, *et al.* 2BC non-structural protein of enterovirus A71 interacts with SNARE proteins to trigger autolysosome formation. *Viruses* 2017; 9(7): 169.
- Huang SC, Chang CL, Wang PS, Tsai Y, Liu HS. Enterovirus 71-induced autophagy detected *in vitro* and *in vivo* promotes viral replication. *J Med Virol* 2009; 81(7): 1241-52.
- Yoon SY, Ha YE, Choi JE, Ahn J, Lee H, Kweon H, *et al.* Coxsackievirus B4 uses autophagy for replication after calpain activation in rat primary neurons. *J Virol* 2008; 82(23): 11976-8.
- Hou L, Ge X, Xin L, Zhou L, Guo X, Yang H. Nonstructural proteins 2C and 3D are involved in autophagy as induced by the encephalomyocarditis virus. *Virol J* 2014; 11: 156.
- Ao D, Guo HC, Sun SQ, Sun DH, Fung TS, Wei YQ, *et al.* Viroporinactivity of the foot-and-mouth disease virus non-structural 2B protein. *PLoS One* 2014; 10(5): e0125828.
- Klein KA, Jackson WT. Human rhinovirus 2 induces the autophagic pathway and replicates more efficiently in autophagic cells. *J Virol* 2011; 85(18): 9651-4.
- Oh JE, Lee HK. Pattern recognition receptors and autophagy. *Front Immunol* 2014; 5: 300.
- Sun J, Desai MM, Soong L, Ou JJ. IFN- α/β and autophagy. *Autophagy* 2011; 7(11): 1394-6.
- Romao S, Gasser N, Becker AC, Guhl B, Bajagic M, Vanoaico D, *et al.* Autophagy proteins stabilize pathogen-containing phagosomes for prolonged MHC II antigen processing. *J Cell Biol* 2013; 203(5): 757-66.
- Bengs S, Marttila J, Susi P, Ilonen J. Elicitation of T cell responses by structural and non-structural proteins of coxsackievirus B4. *J General Virol* 2015; 96(2): 322-30.
- Into T, Inomata M, Takayama E, Takigawa T. Autophagy in regulation of Toll-like receptor signaling. *Cell Signal* 2012; 24(6): 1150-62.
- Oshiumi H, Okamoto M, Fujii K, Kawanishi T, Matsumoto M, Koike S, *et al.* The TLR3/TICAM-1 pathway is mandatory for innate immune responses to poliovirus infection. *J Immunol* 2011; 187(10): 5320-7.
- Fan X, Han S, Yan D, Gao Y, Wei Y, Liu X, *et al.* Foot-and-mouth disease virus infection suppresses autophagy and NF- κ B antiviral responses via degradation of ATG5-ATG12 by 3Cpro. *Cell Death Dis* 2017; 8(1): e2561.
- Zhou D, Kang KH, Spector SA. Production of interferon α by human immunodeficiency virus type 1 in human plasmacytoid dendritic cells is dependent on induction of autophagy. *J Infect Dis* 2012; 205(8): 1258-67.
- Zhu W, Xu J, Jiang C, Wang B, Geng M, Wu X, *et al.* Pristanol induces autophagy in macrophages, promoting a STAT1-IRF1-TLR3 pathway and arthritis. *Clin Immunol* 2017; 175: 56-68.
- Li W, Zhu Z, Cao W, Yang F, Zhang X, Li D, *et al.* Esterase D enhances type I interferon signal transduction to suppress foot-and-mouth disease virus replication. *Mol Immunol* 2016; 75: 112-21.

- 28 Shi J, Wong J, Piesik P, Fung G, Zhang J, Jagdeo J, *et al.* Cleavage of sequestosome 1/p62 by an enteroviral protease results in disrupted selective autophagy and impaired NFκB signaling. *Autophagy* 2013; 9(10): 1591-630.
- 29 Lind K, Richardson SJ, Leete P, Morgan NG, Korsgren O, Flodströmtullberg M. Induction of an antiviral state and attenuated coxsackievirus replication in type III interferon-treated primary human pancreatic islets. *J Virol* 2013; 87(13): 7646-54.
- 30 Yi L, He Y, Chen Y, Kung HF, He ML. Potent inhibition of human enterovirus 71 replication by type I interferon subtypes. *Antivir Ther* 2011; 16(1): 51-8.
- 31 Kemball CC, Harkins S, Whitmire JK, Flynn CT, Feuer R, Whitton JL. Coxsackievirus B3 inhibits antigen presentation *in vivo*, exerting a profound and selective effect on the MHC class I pathway. *PLoS Pathog* 2009; 5(10): e1000618.
- 32 Loi M, Gannagé M, Münz C. ATGs help MHC class II, but inhibit MHC class I antigen presentation. *Autophagy* 2016; 12(9): 1681-2.
- 33 Romao S, Münz C. LC3-associated phagocytosis. *Autophagy* 2014; 10(3): 526-8.
- 34 Gannage M, Münz C. MHC presentation via autophagy and how viruses escape from it. *Semin Immunopathol* 2010; 32(4): 373-81.
- 35 Ashton MP, Eugster A, Walther D, Daehling N, Riethausen S, Kuehn D, *et al.* Incomplete immune response to coxsackie B viruses associates with early autoimmunity against insulin. *Sci Rep* 2016; 6: 32899.
- 36 Deitz SB, Dodd D A, Cooper S, Parham P, Kirkegaard K. MHC I-dependent antigen presentation is inhibited by poliovirus protein 3A. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(25): 13790-5.
- 37 Liu E, Grol JV, Subauste CS. Atg5 but not Atg7 in dendritic cells enhances IL-2 and IFN-γ production by *Toxoplasma gondii*-reactive CD4⁺ T cells. *Microbes Infect* 2015; 17(4): 275-84.
- 38 Tan S, Tan X, Sun X, Lu G, Chen CC, Yan J, *et al.* VP2 dominated CD4⁺ T cell responses against enterovirus 71 and cross-reactivity against coxsackievirus A16 and polioviruses in a healthy population. *J Immunol* 2013; 191(4): 1637-47.
- 39 Guzman E, Taylor G, Charleston B, Skinner MA, Ellis SA. An MHC-restricted CD8⁺ T-cell response is induced in cattle by foot-and-mouth disease virus (FMDV) infection and also following vaccination with inactivated FMDV. *J Gen Virol* 2008; 89(3): 667-75.
- 40 Lai JK, Sam IC, Chan YF. The autophagic machinery in enterovirus infection. *Viruses* 2016; 8(2): pii: E32.
- 41 Robinson SM, Tsueng G, Sin J, Mangale V, Rahawi S, McIntyre LL, *et al.* Coxsackievirus B exits the host cell in shed microvesicles displaying autophagosomal markers. *PLoS Pathog* 2014; 10(4): e1004045.
- 42 Richards AL, Jackson WT. Intracellular vesicle acidification promotes maturation of infectious poliovirus particles. *PLoS Pathog* 2012; 8(11): e1003046.
- 43 Bird SW, Maynard ND, Covert MW, Kirkegaard K. Nonlytic viral spread enhanced by autophagy components. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(36): 13081-6.
- 44 Conway KL, Kuballa P, Khor B, Zhang M, Shi HN, Virgin HW, *et al.* ATG5 regulates plasma cell differentiation. *Autophagy* 2013; 9(4): 528-37.
- 45 Shi J. Disruption of selective autophagy in coxsackievirus B3 infection. University of British Columbia, 2015.
- 46 Mauthe M, Langereis M, Jung J, Zhou X, Jones A, Omta W, *et al.* An siRNA screen for ATG protein depletion reveals the extent of the unconventional functions of the autophagy proteome in virus replication. *J Cell Biol* 2016; 214(5): 619-35.
- 47 Alirezai M, Flynn CT, Wood MR, harkins S, Whitton JL. Coxsackievirus can exploit LC3 in both autophagy-dependent and -independent manners *in vivo*. *Autophagy* 2015; 11(8): 1389-407.
- 48 O'Donnell V, Pacheco J M, Larocco M, Burrage T, Jackson W, Rodriguez L, *et al.* Foot-and-mouth disease virus utilizes an autophagic pathway during viral replication. *Virology* 2011; 410(1): 142-50.
- 49 Richards AL, Jackson WT. That which does not degrade you makes you stronger: Infectivity of poliovirus depends on vesicle acidification. *Autophagy* 2013; 9(5): 806-7.
- 50 Chen YH, Du WL, Hagemeyer M, Takvorian PM, Pau C, Cali A, *et al.* Phosphatidylserine vesicles enable efficient en bloc transmission of enteroviruses. *Cell* 2015; 160(4): 619-30.