

DOI: 10.13376/j.cbls/2018025

文章编号: 1004-0374(2018)02-0187-09



孙仑泉, 中南大学湘雅医院教授, 现任中南大学分子医学研究中心(湘雅医院)主任、湖南省分子放射肿瘤学重点实验室主任。主要从事恶性肿瘤的发病机理、肿瘤治疗抵抗机制、肿瘤靶向精准治疗等方面的研究。先后主持国家自然科学基金重点项目、重大研究计划项目、面上项目, 科技部“支撑计划”、“863”、“973”、“新药创制”项目等。在 *Nat Biotech*、*Nat Med*、*PNAS*、*JNCI* 等高水平杂志发表论文 100 余篇。

病毒非编码RNA与肿瘤发生发展

唐飞羽¹, 何江^{1,2}, 李江¹, 孙仑泉^{1,2*}

(1 中南大学湘雅医院分子医学研究中心, 长沙 410008; 2 湖南省分子放射肿瘤学重点实验室, 长沙 410008)

摘要: 超过 12% 的人类肿瘤与病毒密切相关, 如 Epstein-Barr virus (EBV)、high-risk human papillomaviruses (HPV)、hepatitis B virus (HBV)、hepatitis C virus (HCV)、Kaposi's sarcoma herpesvirus (KSHV) 等。传统观点认为病毒调控细胞恶性转化及肿瘤发生主要与病毒编码蛋白相关, 但随着组学和测序技术发展, 人们开始认识到病毒非编码 RNA 在肿瘤发生发展中的重要性。这些非编码 RNA 不翻译为蛋白质, 仅在 RNA 水平参与对宿主细胞和病毒自身生命活动的多方面调控。现将针对长非编码 RNA、短非编码 RNA 及 microRNA 在肿瘤中的调控进行综述。

关键词: 非编码 RNA; 致癌病毒; 病毒相关肿瘤; 肿瘤发生; 致癌机理

中图分类号: Q522; R730.2 **文献标志码:** A

Viral noncoding RNAs in virus-associated tumors

TANG Fei-Yu¹, HE Jiang^{1,2}, LI Jiang¹, SUN Lun-Quan^{1,2*}

(1 Center for Molecular Medicine, Xiangya Hospital, Collaborative Innovation Center for Cancer Medicine, Central South University, Changsha 410008, China;

2 Key Laboratory of Molecular Radiation Oncology Hunan Province, Changsha 410008, China)

Abstract: Over 12% of human cancers are closely related to viruses, such as Epstein-Barr virus, high-risk human papillomaviruses, hepatitis B and C viruses, and Kaposi's sarcoma herpesvirus. It has been well accepted that cellular pathogenicity and tumorigenesis are mainly associated with viral proteins in virus-associated tumors. However, owing to the development of sequencing technologies, now people pay more attention to viral noncoding RNAs (ncRNAs). These ncRNAs regulate cellular physiologic and pathologic processes in a direct way. In this review, we mainly focus on the recent understanding of the long and short ncRNAs as well as microRNAs of the

收稿日期: 2017-09-25; 修回日期: 2018-01-12

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2013CB967203); 国家自然科学基金项目(81530084)

*通信作者: E-mail: lunquansun@csu.edu.cn

viruses, and discuss their roles in cancer biology of multistep oncogenesis mediated by established human oncoviruses.

Key words: noncoding RNAs; oncoviruses; virus-associated tumors; oncogenesis; tumor pathogenesis

自1911年Peyton Rous发现禽肉瘤病毒并建立了肿瘤病毒学这一学科领域以来,人们针对病毒蛋白的致病机制进行了深入研究。近年来,随着DNA和RNA测序技术的发展,人们开始更多地关注病毒非编码RNA与人类肿瘤的关联。已有证据表明,病毒非编码RNA(noncoding RNAs, ncRNAs)可以调控病毒自身的复制,帮助病毒防御宿主抵抗,从而促进和建立病毒的感染。对于致瘤病毒而言,其编码的非编码RNA在肿瘤发生发展中的作用已成为领域内的研究热点。

哺乳细胞ncRNAs依据长度可分为小非编码RNA(small noncoding RNAs, sncRNAs)、中型非编码RNA(mid-size ncRNAs)和长非编码RNA(long noncoding RNAs, lncRNAs)3类,每种类型又细分为多种亚型,如piRNAs(PIWI-interacting RNAs)、snoRNAs(small nucleolar RNAs)、T-UCRs(transcribed ultra-conserved regions)和lincRNAs(large intergenic non-coding RNAs),这些ncRNAs对于维持细胞稳态至关重要^[1]。人类致瘤病毒在复制及潜伏的不同阶段转录不同ncRNAs,并影响宿主细胞运动、转换及恶化,其中miRNAs(microRNAs)和lncRNAs是最主要的两种类型,也是本文讨论的焦点。此外,我们还将聚焦于一些独特的非编码转录产物,如sfRNAs(sub-genomic flaviviral RNAs)、sisRNAs(stable intronic sequence RNAs)等,这些ncRNAs同样影响病毒复制及潜伏,多项证据显示它们在协同调控病毒与宿主细胞的互作以及介导病毒ncRNAs致瘤机制中均发挥着重要作用。

1 病毒编码的lncRNAs

致瘤病毒可以转录高水平的RNA,但不编码蛋白产物,这些ncRNAs的生物学功能仍未完全知晓。众多ncRNAs中,有6类lncRNAs的功能比较明确,分别是EB病毒编码的EBER、 γ 类疱疹病毒编码的HSUR、人巨细胞病毒编码的ncRNA β 2.7、卡波西肉瘤相关疱疹病毒编码的PAN RNA、黄病毒编码的sfRNA以及内含子长非编码RNA。病毒感染的同时,宿主细胞也转录一系列ncRNAs,协同病毒促进肿瘤发生。

1.1 EBER

EBV在4个潜伏阶段(0-III期)均表达两类EBER:EBER1和EBER2^[2]。EBER是EB病毒潜伏期编码的拷贝数最高的小RNAs(平均每个细胞 10^7 拷贝),仅在胞核表达^[3],提示EBER在胞核中行使功能。EBER通过结合PKR(dsRNA-dependent protein kinase)抑制IFN诱导和PKR介导的蛋白翻译抑制及细胞凋亡^[4,5]。另有研究报道,EBER1与AUF1/hnRNP D互作。AUF1/hnRNP D(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D)通过结合mRNA 3'UTR AU富集元件(AU-rich element, ARE)介导mRNA快速降解。EBER1直接抑制AUF1/hnRNP D功能,确保病毒编码的潜伏蛋白能行使正常功能^[6]。此外, Lee等^[7]发现,EBER2通过RNA-RNA结合间接将宿主细胞转录因子PAX5(paired box protein 5)“拖拽”至病毒DNA,从而促进病毒基因表达,维持病毒致瘤蛋白LMP1/2的转录活性和病毒复制活性,提示sEBER调控病毒致瘤作用的必要性。

多年来,人们致力于探讨EBER潜在的致瘤机制。原位杂交结果显示,EBV感染的淋巴瘤细胞表达高水平的EBER^[8]。EBER在永生化鼻咽上皮细胞中具有抗凋亡效应。EBER阳性细胞系NP69(一种永生化的鼻咽上皮细胞)具有更快的生长速率,但不形成克隆,也不具备成瘤能力^[9]。Yoshizaki等^[10]报道表明,NPC-KT细胞表达更高的EBER,但没有表现出任何生长优势或抗凋亡能力。尽管前期研究显示EBV感染鼻咽癌细胞会诱导IGF-1,并以自分泌形式促进细胞生长^[11],仍没有充分证据证明EBER与淋巴瘤和鼻咽癌的发生直接相关。这些不同结论的结果可能与实验系统、不同EBV阳性细胞系遗传背景,以及EBER在不同细胞内水平等的差异有关。EBER双链RNA二级结构(图1)可被TLR3(Toll-like receptor 3)和RIG-I(retinoic acid-induced gene protein I)识别,并分别诱导淋巴细胞病变和淋巴瘤形成^[12-16]。多项研究报道了TLR3和RIG-I与EBER介导的炎症及鼻咽癌病理机制相关^[15-16]。Duan等^[15]前期研究也显示,EBER能够诱发RIG-I依赖的NF- κ B和IRF3信号通路活化,从而促进鼻咽癌发展。进一步研究显示,EBER可诱导RIG-I介导的炎症因子释放,增强肿瘤相关巨噬细胞

(tumor associated macrophage, TAM) 的趋化效应和极化。此外, 他们还发现 EBER 能通过 TLR3 诱导鼻咽癌细胞的炎症反应, 其过程伴随高浓度 TNF- α 释放。有趣的是, EBER 和 EBV 潜伏膜蛋白 1 (latent membrane protein 1, LMP1) 可以与 NF- κ B 形成正性

调控环路, 从而放大 EBV 感染的上皮细胞炎症信号^[12], 首次揭示了 ncRNA 协同 EBV 蛋白调控肿瘤相关炎症 (图 2)。

1.2 HSUR

HVS (herpesvirus saimiri) 是一种 γ 类疱疹病毒,

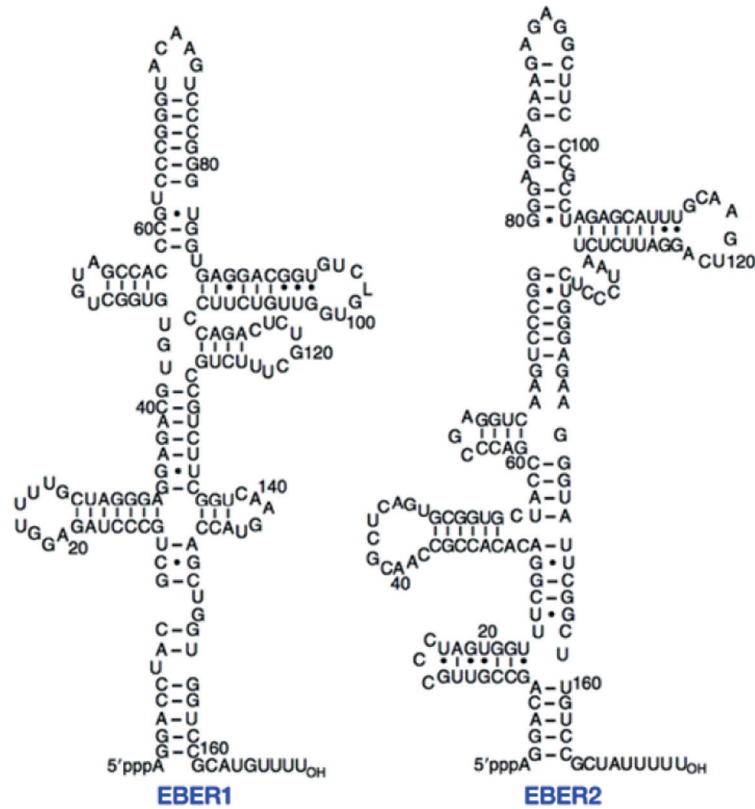


图1 EBER的二级结构示意图

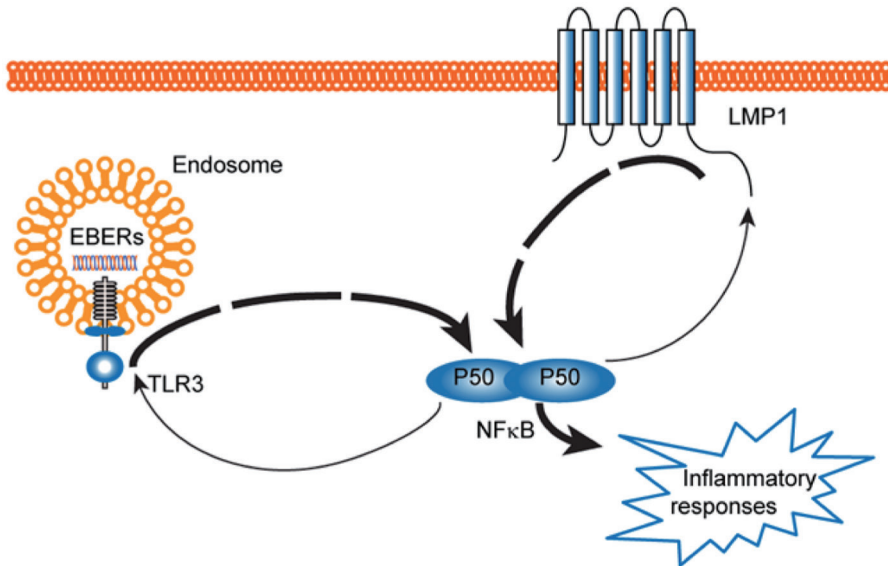


图2 EBER与病毒蛋白LMP1协同调控肿瘤的炎症反应

可引发灵长类 T 细胞白血病和淋巴瘤, 促进人类初始 T 细胞转化^[17-18]。HVS 基因组包含 7 个 ncRNA 基因, 编码 7 种 Sm 类小核 RNA (small nuclear RNAs, snRNAs), 也被称为 HSUR (herpesvirus saimiri U-rich RNA), 是 HVS 感染的 T 细胞中表达峰度最高的 RNA^[19]。HSUR 1、2、5 的 5' 端具有高度保守的 ARE, 可以调控许多宿主促癌基因和细胞因子 mRNA 稳定性。已有研究报道, HSUR 表达水平受细胞 ARE 结合蛋白调控, 如 hnRNP 和 HuR^[20-21]。Microarray 和 Northern blot 实验显示, 病毒感染 T 细胞活化过程中, HSUR1 和 2 会上调宿主细胞相关 mRNA 表达水平^[22]。

近期研究报道, HSUR1 和 HSUR2 能与猿类 T 细胞编码的 3 类 miRNA 结合 (miR-142-3p、miR-27、miR-16)。miR-27 在 HSUR1 表达的细胞中显著下调, 从而影响其靶基因的表达, 提示了病毒调控宿主基因表达的新途径。特别是, HSUR1 能够伪装成宿主 miRNA 剪切子, 特异性结合 miRNA, 从而促进 miRNA 降解^[23-24]。miR-27 是 T 细胞活化的抑制子^[25], 降解 miR-27 将促进 T 细胞活化及增生, 提示 HSUR 与 HVS 与 T 细胞转化密切相关^[26]。藉此, 深入探讨 HSUR1 抑制 miR-27 的独特调控机制对了解 T 细胞淋巴瘤的发生发展具有重要意义。

1.3 lncRNA β 2.7

人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV) 是一种多宿主的特异性 β 类疱疹病毒, 具有无临床症状或温和致病性的特征, 与炎症疾病和肿瘤密切相关。HCMV 编码 ncRNA β 2.7, 其序列覆盖了 20% 病毒基因组, 主要表达在病毒感染期^[27]。近期研究提示, β 2.7 能够抑制鱼藤酮诱导的细胞凋亡。在感染期, 当细胞受到凋亡信号刺激, β 2.7 RNA 结合复合体 I, 抑制 mortality-19 (凋亡应激下类视色素 / 干扰素诱导的基因产物的重要亚基) 重定位。病毒 RNA 靶向结合复合体 I 可以精确调控宿主细胞代谢活力^[28]。考虑到抗凋亡能力与肿瘤形成的密切联系, 可以推测 β 2.7 在某些肿瘤形成过程中发挥作用。有趣的是, 核糖体图谱及质谱结果显示 β 2.7 还可以被翻译成小肽段, 发挥类似蛋白的功能^[29]。

1.4 KSHV 编码的多腺苷酸核 RNA (PAN RNA)

卡波西肉瘤相关疱疹病毒 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV) 是一种致瘤性 γ 类疱疹病毒, 也是卡波西肉瘤和体腔淋巴瘤的致病原^[30]。KSHV 在感染阶段编码大量长链非编码多聚腺苷酸化 RNA, 称为 PAN RNA。PAN RNA 聚集在核内,

维持极高的拷贝数 (~50 万拷贝 / 细胞), 参与病毒生命活动的调控, 与卡波西肉瘤发生发展密切相关。

RNA 序列分析显示, 表达 PAN RNA 的细胞系中, 细胞周期、免疫及炎症相关基因转录均出现障碍, 细胞表现为更快的生长速率、更高的密度、更强的生存能力和更低的炎性细胞因子表达^[31]; 若删除 PAN RNA, KSHV 晚期基因表达出现障碍, 感染性病毒颗粒数也下降^[32-33]。PAN RNA 与多种病毒或细胞因子存在互作关系。例如, PAN RNA 通过结合 KSHV 编码的 ORF57 促进自身稳定, 维持核内浓度^[34-35]。另有研究报道, PAN RNA 与 LANA (KSHV 潜伏相关核抗原) 结合, 使 LANA 与病毒游离 DNA 隔离, 促进细胞裂解^[36]。PAN RNA 也可以通过结合 IRF4 (interferon regulatory factor 4) 下调 IRF4 介导的细胞因子启动子活性, 如 IL-4, 提示 PAN RNA 在病毒免疫逃逸方面也发挥重要作用^[34]。

PRC2 (polycomb repressive complex 2) 是一种具有甲基化转移酶活性的复合物, 其主要成员之一是 EZH2 (enhancer of zeste homolog 2), 可以催化组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸发生三聚甲基化 (trimethylates histone H3 on lysine 27, H3K27me3)。EZH2 通过调控组蛋白转录后修饰改变染色体结构和基因表达。人类肿瘤常见 EZH2 过表达, 且通常伴随有更高的恶性程度和更差的预后。实验显示, KSHV⁺ 上皮细胞 EZH2 水平明显上调, 免疫共沉淀进一步证实 PAN RNA 与 EZH2 相互作用^[31], 因而有理由认为 PAN RNA 对细胞功能的调控涉及到表观遗传修饰。

1.5 sfRNA

黄病毒科是一大类具有包膜的单正链 RNA 病毒, 通过节肢动物的叮咬进行传播而导致出血热、脑炎等疾病, 如日本脑炎病毒 (JEV)、西尼罗河病毒 (WNV)、登革病毒 (DENV)、蜱传脑炎病毒 (TBEV) 等。sfRNA (noncoding subgenomic flavivirus) 是黄病毒编码的 ncRNA, 位于病毒基因组 3'UTR 区域, 是细胞 5'-3' 方向核酸外切酶 XRN1 剪切后的产物^[37]。3'UTR 折叠成一个有趣的三螺旋连接, 可以阻止 XRN1 对病毒转录组的降解作用^[38], 并导致大量 sfRNA 聚集^[39]。

sfRNA 对黄病毒复制、诱导细胞病变能力和致病性都具有影响。在 WNV 和 YFV 基因组突变的哺乳动物及蚊子细胞系中均发现病毒复制速率下调^[39-40], 病毒入侵会激活宿主细胞 I 型干扰素 (IFN) 反应, 而 WNV sfRNA 可以对抗这一反应^[41]。

Schuessler 等^[42]发现, IFN 通路障碍的小鼠或人类细胞系中 sfRNA 功能会得到恢复, 提示 sfRNA 可以对抗 I 型 IFN 介导的抗病毒反应。他们为此设计了一系列实验, 如预先处理 IFN- α 或中和细胞 IFNAR 后检测病毒复制效率, IFN- α 存在情况下转染 sfRNA 后检测病毒复制等, 所有实验结果都验证了上述结论。

越来越多的证据显示, RNA 病毒编码的 ncRNA 是病毒避免自身 RNA 被当成宿主细胞 RNA 而被降解的有力武器。以黄病毒为例, XRN1 剪切病毒 RNA 生成 sfRNA 阶段, sfRNA 3' 端会形成一个有趣的三螺旋连接, 钳制住 XRN1 并抑制其活性, 避免病毒基因组被完全降解。细胞感染 DENV 或库京病毒 (Kunjin virus) 后会促进无帽修饰 mRNA 的聚集和 XRN1 降解 RNA 的媒介分子的降低。抑制 XRN1 活性同时还促进细胞 mRNA 整体水平的稳定^[43]。摧毁细胞 RNA 降解机制有利于病毒转录组稳定, 增强病毒干预细胞基因表达的能力。

黄病毒科中还有一类不可忽视的病毒, 即 HCV (hepatitis C virus)。HCV 也属于 RNA 病毒, 全世界有 1.3~1.5 亿人口感染 HCV。长期 HCV 感染将导致急性肝功损伤、肝硬化和肝癌。HCV 抑制 XRN1 的过程伴有 5'-3' 降解途径的大幅抑制, 以及细胞众多短寿蛋白 mRNA 的稳定性的显著提升。值得一提的是, HCV 感染细胞期间, 细胞许多致癌基因和血管生成因子 mRNA 均趋于稳定^[44]。因此, 黄病毒抑制 XRN1 活性是一条保守的调控途径, 通过该调控机制有助于促进癌症发生。

1.6 内含子长非编码RNA

mRNA 前体剪切后会产生一些未多聚腺苷酸化的 ncRNA, 也称为内含子长非编码 RNA (intronic long noncoding RNAs), 较为人们熟知的有 snoRNAs (small nucleolar RNAs)、sno-lncRNAs、ciRNAs (circular intronic RNAs) 和 circRNAs (circular RNAs)^[45]。过去数十年间, 人们一直致力于研究病毒编码的内含子长非编码 RNA 的功能。

1987 年, 人们在 α 疱疹病毒 HSV-1 中首次发现病毒编码的 lncRNA, 并命名为 LAT (latency-associated transcript gene)。LAT 属于 ciRNA, 在受感染细胞大量表达并聚集后形成一个“套索”样结构, 增强稳定性。动物实验显示, LAT 具有抗凋亡能力, 因为在 LAT⁽⁻⁾ 病毒基因组中 LAT 基因原有位置插入一些抗凋亡基因后, 细胞表现出与野生型相同的再活化表型。LAT 还参与调控免疫逃逸反应,

如增加 HVEM 表达 (疱疹病毒入侵的媒介分子, 属于肿瘤坏死因子家族), 从而抑制 T 细胞功能^[46]。LAT 的表达通过抑制细胞凋亡维持病毒持续感染; 同时, 通过病毒基因启动子异染色质结构沉默病毒裂解复制基因的表达^[47]。此外, 人类和鼠类 CMV 也可以编码与 HSV-1 LAT ciRNA 结构类似的 ciRNA, 同样可以通过剪切并形成套索结构增强自身稳定性^[48]。

在 EBV 感染的细胞中, RNA-seq 和核糖体缺失后 RNA-Seq 分析分别鉴定出两类 sisRNA: ebv-sisRNA-1 (81 nt) 和 ebv-sisRNA-2 (2 791 nt)^[2,49]。EBV-sisRNA-1 表达量约占 21% 的 EBER1, 与 EBER2 水平相持。与 LAT 不同, ebv-sisRNA-1 片段要小得多, 且为线性分子, 不形成套索样结构。目前可以确定的是, ebv-sisRNA-1 短发夹序列包含一段完整的富含 CA 的区域, 这些模体被认为是潜在的蛋白结合位点。而 EBV-sisRNA-2 的显著特征是其 RNA 二级结构保守且热稳定^[49], 具有一个庞大的发夹结构 (586 nt), 结构保守, 但碱基序列在不同的淋巴滤泡病毒中各不相同^[24]。

EBV 还编码一类具有经典 C/D box 的 snoRNA, 命名为 v-snoRNA1。C-box 模体对于 snoRNA 稳定性维持至关重要, 特异性删除该模体将导致 v-snoRNA1 表达完全受抑制。人们通过原位杂交技术确定了 v-snoRNA1 定位于核仁。此外, 人们还确定了 3 种经典 v-snoRNA1 结合蛋白——fibrillarin、Nop56 和 Nop58。v-snoRNA1 可以被加工成 24 nt 的 RNA (称为 v-snoRNA124pp), 因而它可能充当 miRNA 样前体的角色。值得一提的是, v-snoRNA1 在几乎所有 EBV 阳性细胞系中均有表达, 包括 LCL (lymphoblastoid cell lines), 提示 v-snoRNA1 具有潜在的促进淋巴瘤生成作用^[50], 但迄今为止, 还没有研究显示 v-snoRNA1 和 EBV 相关的上皮组织来源肿瘤的相关性。

2 病毒编码的microRNA

MicroRNA (miRNA) 是一类小分子非编码 RNA, 一般由 20~23 nt 组成, 其序列与靶基因部分或全部同源^[51], 通过结合靶基因 3' 端 UTR 降解基因或负性调控基因表达^[52]。作为一类重要的调控子, miRNA 参与细胞众多生理病理过程, 包括肿瘤生成和凋亡。许多病毒感染肿瘤均表达病毒编码的 miRNA, 提示这些 miRNA 对于病毒潜伏和肿瘤形成具有重要意义。

2.1 EBV编码的miRNA

EBV是第一个被发现编码miRNA的人类病毒。至今,人们已鉴定出25种miRNA前体和48种成熟miRNA^[53-54],根据它们在病毒基因组中所处的位置可分为BHRF1(BamHI fragment H rightward open reading frame1)和BART(BamHI A rightward transcript)两种。BHRF1区域编码3种miRNA前体和4种成熟miRNA,而BART区域编码两个cluster miRNA,共22种miRNA前体和44种成熟miRNA^[55]。

研究显示,EBV编码的miRNA在EBV相关恶性肿瘤中发挥重要作用。根据生物信息数据和生物功能分析,这些miRNA的潜在靶基因均与肿瘤发生相关^[56-57]。研究表明,miR-BHRF1可以通过直接靶向抑制p53调控TPA诱导的EBV的裂解复制^[58]。miR-BART5的靶基因之一是Bcl-2家族促凋亡成员PUMA(p53 up-regulated modulator of apoptosis)。在EBV感染的上皮细胞中,miR-BART5表达水平与PUMA呈负相关,若给予DNA损伤诱导剂Adriamycin处理,miR-BART5可以保护宿主细胞不启动凋亡程序^[59]。另有研究报道,NDRG1(N-myc downstream regulated gene 1)作为上皮分化标志蛋白和转移抑制子,在EBV阳性细胞中可被BART miRNA cluster 2所有成员抑制^[60]。LMP1(EBV latent membrane protein 1)是EBV编码的重要致癌蛋白,与鼻咽癌发生发展息息相关。一方面,miR-BART cluster 1通过抑制LMP1表达降低鼻咽癌细胞对顺铂的敏感性^[61];另一方面,在NK/T细胞淋巴瘤中,miR-BART9通过上调LMP1维持EBV潜伏状态^[62]。miR-BART9在鼻咽癌中高表达,删除miR-BART9会抑制鼻咽癌细胞侵袭和转移能力^[63]。另有研究报道,EBV-miR-BART10-3p通过结合BTRC基因抑制 β -TrCP(beta-transducin repeat containing E3 ubiquitin targets ligase)蛋白生成,从而抑制其底物 β -catenin和snail的降解,促进鼻咽癌EMT发生^[64]。

2.2 KSHV编码的miRNA

KSHV具有潜伏期和裂解复制期两个阶段,促瘤基因和免疫逃逸反应相关基因大多在潜伏期表达。KSHV编码miRNA可以维持病毒潜伏状态,抑制宿主免疫反应,促进肿瘤发生^[65]。目前人们已经鉴定出13种KSHV miRNA前体和25种成熟miRNA,这些miRNA均定位于KSHV潜伏相关区域(KSHV latency-associated region, KLAR)^[66]。

KSHV作为一种致癌病毒,其调控细胞生命活动必然要涉及到促进细胞存活、抑制死亡及推进细

胞周期等方面。研究证明,KSHV对上述事件均具有调控作用。kshv-miR-K12-1一方面调控IkB α ,激活NF- κ B依赖的病毒潜伏和细胞存活^[65];另一方面调控p21,防止细胞周期停滞^[67]。除了kshv-miR-K12-1,kshv-miR-K12-5、9、10、11和12也参与调控病毒复制周期^[68-70]。kshv-miR-K12-3和kshv-miR-K12-7通过抑制C/EBP β ,激活IL-6和IL-10转录,促进细胞增殖和血管生成^[71]。kshv-miR-K12-9结合并抑制GADD45B(growth arrest DNA damage-inducible gene beta),维持细胞生命^[72]。与之类似,kshv-miR-K12-10抑制TWEAKR(tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis receptor)介导的IL-8表达,抵抗TWEAKR诱导的细胞凋亡效应^[73]。

KSHV miRNA还能通过调控宿主mRNA促进病毒免疫逃逸反应。MYD88(myeloid differentiation primary response 88)和IRAK1(interleukin-1 receptor-associated kinase 1)为介导TLR/IL-1R信号通路的重要调控分子,kshv-miR-K12-5和kshv-miR-K12-9分别靶向结合MYD88和IRAK1,通过抑制其活性降低细胞炎症反应^[74]。细胞因子也受KSHV调控。kshv-miR-K12-10抑制TWEAKR(tumor necrosis factor-like weak inducer of the apoptosis receptor),从而下调IL-8和MCP-1(monocyte chemoattractant protein 1)水平^[73]。

研究显示,KSHV miRNA可以积极参与调控病毒自身潜伏-复制的转换。kshv-miR-K12-7和kshv-miR-K12-9抑制ORF50转录,而后者属于RTA(replication and transcription activator),对于裂解复制的起始非常重要^[75-76]。Rb样蛋白2(retinoblastoma-like protein 2, Rbl2)通过抑制DNA甲基转移酶活性避免RTA启动子发生甲基化修饰,miR-K12-4可以抑制Rbl2,从而抑制Rbl2靶基因转录活性^[77]。另一个调控RTA的miRNA是kshv-miR-K12-3,通常被认为是RTA激动剂^[78],可以拮抗其他病毒miRNA对RTA的抑制效应,促进病毒裂解复制。

2.3 HPV编码的miRNA

HPV是最为广泛涉及肿瘤的人类病毒之一,与宫颈癌等肿瘤的发生发展具有直接联系^[79-80]。HPV16编码9种miRNA,均具有致病性(两种由HPV16编码,一种由HPV38编码,其余的均由HPV68编码),可以调控细胞周期、细胞迁移和肿瘤发生^[81]。显然,HPV病毒编码的miRNA对于病毒潜伏、免疫逃逸或肿瘤发生都具有重要作用。沉

默病毒 miRNA 将有可能是干预病毒致瘤过程及抑制肿瘤发展的有效策略。

3 展望

尽管对致瘤病毒编码的非编码 RNA 在肿瘤发生发展中作用的认识仍待深入, 但其重要的生物学和临床意义正日益受到密切关注。展望该领域, 以下科学问题亟待回答: (1) 病毒非编码 RNA 在致瘤过程中可能影响到肿瘤 10 大特征中的每个环节, 如增殖、凋亡、代谢、基因组不稳定性等, 病毒非编码 RNA 调控不同特征的机制是什么; (2) 病毒可利用非编码 RNA 抑制宿主的抗病毒免疫而建立和维持自身的感染和复制, 这一机制在病毒相关肿瘤的免疫逃逸机制中是否发挥重要作用; (3) 一些 DNA 致瘤病毒在相关肿瘤中以潜伏感染的形式存在, 维持潜伏感染的非编码 RNA 是否是肿瘤发生发展的共驱动因素; (4) 细胞外泌体包含大量的蛋白质和 RNA, 病毒非编码 RNA 是否通过外泌体分泌到微环境并对微环境细胞进行调控; (5) RNA 修饰可以改变其在细胞内的功能, 病毒非编码 RNA 在宿主的不同状态下是否也受到修饰而参与宿主细胞的转化和恶变。

深入探讨以上问题将有助于发现并阐明病毒非编码 RNA 在病毒相关肿瘤发生发展中的机制, 从而为病毒相关肿瘤的诊断和治疗提供新的生物学标志物和治疗靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*, 2011, 12: 861-74
- [2] Moss WN, Lee N, Pimienta G, et al. RNA families in Epstein-Barr virus. *RNA Biol*, 2014, 11: 10-7
- [3] Fok V, Friend K, Steitz JA. Epstein-Barr virus noncoding RNAs are confined to the nucleus, whereas their partner, the human La protein, undergoes nucleocytoplasmic shuttling. *J Cell Biol*, 2006, 173: 319-2
- [4] Clarke PA, Schwemmler M, Schickinger J, et al. Binding of Epstein-Barr virus small RNA EBER-1 to the double-stranded RNA-activated protein kinase DAI. *Nucleic Acids Res*, 1991, 19: 243-8
- [5] Ruf IK, Lackey KA, Warudkar S, et al. Protection from interferon-induced apoptosis by Epstein-Barr virus small RNAs is not mediated by inhibition of PKR. *J Virol*, 2005, 79: 14562-9
- [6] Lee N, Pimienta G, Steitz JA. AUF1/hnRNP D is a novel protein partner of the EBER1 noncoding RNA of Epstein-Barr virus. *RNA*, 2012, 18: 2073-82
- [7] Lee N, Yario TA, Gao JS, et al. EBV noncoding RNA EBER2 interacts with host RNA-binding proteins to regulate viral gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 3221-6
- [8] Poon LM, Kwong YL. Complete remission of refractory disseminated NK/T cell lymphoma with brentuximab vedotin and bendamustine. *Ann Hematol*, 2016, 95: 847-9
- [9] Wong HL, Wang X, Chang RC, et al. Stable expression of EBERs in immortalized nasopharyngeal epithelial cells confers resistance to apoptotic stress. *Mol Carcinog*, 2005, 44: 92-101
- [10] Yoshizaki T, Endo K, Ren Q, et al. Oncogenic role of Epstein-Barr virus-encoded small RNAs (EBERs) in nasopharyngeal carcinoma. *Auris Nasus Larynx*, 2007, 34: 73-8
- [11] Iwakiri D, Sheen TS, Chen JY, et al. Epstein-Barr virus-encoded small RNA induces insulin-like growth factor 1 and supports growth of nasopharyngeal carcinoma-derived cell lines. *Oncogene*, 2005, 24: 1767-73
- [12] Iwakiri D, Zhou L, Samanta M, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded small RNA is released from EBV-infected cells and activates signaling from Toll-like receptor 3. *J Exp Med*, 2009, 206: 2091-9
- [13] Samanta M, Iwakiri D, Takada K. Epstein-Barr virus-encoded small RNA induces IL-10 through RIG-I-mediated IRF-3 signaling. *Oncogene*, 2008, 27: 4150-60
- [14] Samanta M, Iwakiri D, Kanda T, et al. EB virus-encoded RNAs are recognized by RIG-I and activate signaling to induce type I IFN. *EMBO J* 2006, 25: 4207-14
- [15] Duan Y, Li Z, Cheng S, et al. Nasopharyngeal carcinoma progression is mediated by EBER-triggered inflammation via the RIG-I pathway. *Cancer Lett*, 2015, 361: 67-74
- [16] Li Z, Duan Y, Cheng S, et al. EBV-encoded RNA via TLR3 induces inflammation in nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*, 2015, 6: 24291-303
- [17] Albrecht JC, Fleckenstein B. Nucleotide sequence of HSUR 6 and HSUR 7, two small RNAs of herpesvirus saimiri. *Nucleic Acids Res*, 1992, 20: 1810
- [18] Ensser A, Fleckenstein B. T-cell transformation and oncogenesis by γ 2-herpesviruses. *Adv Cancer Res*, 2005, 93: 91-128
- [19] Lee SI, Murthy SC, Trimble JJ, et al. Four novel U RNAs are encoded by a herpesvirus. *Cell*, 1988, 54: 599-607
- [20] Myer VE, Lee SI, Steitz JA. Viral small nuclear ribonucleoproteins bind a protein implicated in messenger RNA destabilization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 1296-300
- [21] Cook HL, Mischo HE, Steitz JA. The Herpesvirus saimiri small nuclear RNAs recruit AU-rich element-binding proteins but do not alter host AU-rich element-containing mRNA levels in virally transformed T cells. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 4522-33
- [22] Cook HL, Lytle JR, Mischo HE, et al. Small nuclear RNAs encoded by Herpesvirus saimiri upregulate the expression of genes linked to T cell activation in virally transformed T cells. *Curr Biol*, 2005, 15: 974-9
- [23] Cazalla D, Yario T, Steitz JA. Down-regulation of a host microRNA by a Herpesvirus saimiri noncoding RNA.

- Science, 2010, 328: 1563-6
- [24] Tycowski KT, Guo YE, Lee N, et al. Viral noncoding RNAs: more surprises. *Genes Dev*, 2015, 29: 567-84
- [25] Guo YE, Riley KJ, Iwasaki A, et al. Alternative capture of noncoding RNAs or protein-coding genes by herpesviruses to alter host T cell function. *Mol Cell*, 2014, 54: 67-79
- [26] Murthy SC, Trimble JJ, Desrosiers RC. Deletion mutants of herpesvirus saimiri define an open reading frame necessary for transformation. *J Virol*, 1989, 63: 3307-14
- [27] Greenaway PJ, Wilkinson GW. Nucleotide sequence of the most abundantly transcribed early gene of human cytomegalovirus strain AD169. *Virus Res*, 1987, 7: 17-31
- [28] Reeves MB, Davies AA, McSharry BP, et al. Complex I binding by a virally encoded RNA regulates mitochondria-induced cell death. *Science*, 2007, 316: 1345-8
- [29] Stern-Ginossar N, Weisburd B, Michalski A, et al. Decoding human cytomegalovirus. *Science*, 2012, 338: 1088-93
- [30] Ganem D. KSHV and the pathogenesis of Kaposi sarcoma: listening to human biology and medicine. *J Clin Invest*, 2010, 120: 939-49
- [31] Rossetto CC, Tarrant-Elorza M, Verma S, et al. Regulation of viral and cellular gene expression by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus polyadenylated nuclear RNA. *J Virol*, 2013, 87: 5540-53
- [32] Borah S, Darricarrere N, Darnell A, et al. A viral nuclear noncoding RNA binds re-localized poly(A) binding protein and is required for late KSHV gene expression. *PLoS Pathog*, 2011, 7: e1002300
- [33] Rossetto CC, Pari G. KSHV PAN RNA associates with demethylases UTX and JMJD3 to activate lytic replication through a physical interaction with the virus genome. *PLoS Pathog*, 2012, 8: e1002680
- [34] Rossetto CC, Pari GS. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus noncoding polyadenylated nuclear RNA interacts with virus- and host cell-encoded proteins and suppresses expression of genes involved in immune modulation. *J Virol*, 2011, 85: 13290-7
- [35] Massimelli MJ, Kang JG, Majerciak V, et al. Stability of a long noncoding viral RNA depends on a 9-nt core element at the RNA 5' end to interact with viral ORF57 and cellular PABPC1. *Int J Biol Sci*, 2011, 7: 1145-60
- [36] Campbell M, Kim KY, Chang PC, et al. A lytic viral long noncoding RNA modulates the function of a latent protein. *J Virol*, 2014, 88: 1843-8
- [37] Roby JA, Pijlman GP, Wilusz J, et al. Noncoding subgenomic flavivirus RNA: multiple functions in West Nile virus pathogenesis and modulation of host responses. *Viruses*, 2014, 6: 404-27
- [38] Chapman EG, Costantino DA, Rabe JL, et al. The structural basis of pathogenic subgenomic flavivirus RNA (sfrRNA) production. *Science*, 2014, 344: 307-10
- [39] Pijlman GP, Funk A, Kondratieva N, et al. A highly structured, nuclease-resistant, noncoding RNA produced by flaviviruses is required for pathogenicity. *Cell Host Microbe*, 2008, 4: 579-91
- [40] Silva PA, Pereira CF, Dalebout TJ, et al. An RNA pseudoknot is required for production of yellow fever virus subgenomic RNA by the host nuclease XRN1. *J Virol*, 2010, 84: 11395-406
- [41] Cumberworth SL, Clark JJ, Kohl A, et al. Inhibition of type I interferon induction and signalling by mosquito-borne flaviviruses. *Cell Microbiol*, 2017, 19: e12737
- [42] Schuessler A, Funk A, Lazear HM, et al. West Nile virus noncoding subgenomic RNA contributes to viral evasion of the type I interferon-mediated antiviral response. *J Virol*, 2012, 86: 5708-18
- [43] Moon SL, Anderson JR, Kumagai Y, et al. A noncoding RNA produced by arthropod-borne flaviviruses inhibits the cellular exoribonuclease XRN1 and alters host mRNA stability. *RNA*, 2012, 18: 2029-40
- [44] Moon SL, Blackinton JG, Anderson JR, et al. XRN1 stalling in the 5' UTR of Hepatitis C virus and Bovine Viral Diarrhea virus is associated with dysregulated host mRNA stability. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e100470
- [45] Wilusz JE. Long noncoding RNAs: re-writing dogmas of RNA processing and stability. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859: 128-38
- [46] Allen SJ, Rhode-Kurnow A, Mott KR, et al. Interactions between herpesvirus entry mediator (TNFRSF14) and latency-associated transcript during herpes simplex virus 1 latency. *J Virol*, 2014, 88: 1961-71
- [47] Cliffe AR, Garber DA, Knipe DM. Transcription of the herpes simplex virus latency-associated transcript promotes the formation of facultative heterochromatin on lytic promoters. *J Virol*, 2009, 83: 8182-90
- [48] Schwarz TM, Kulesza CA. Stability determinants of murine cytomegalovirus long noncoding RNA7.2. *J Virol*, 2014, 88: 11630-3
- [49] Moss WN, Steitz JA. Genome-wide analyses of Epstein-Barr virus reveal conserved RNA structures and a novel stable intronic sequence RNA. *BMC Genomics*, 2013, 14: 543
- [50] Hutzinger R, Feederle R, Mrazek J, et al. Expression and processing of a small nucleolar RNA from the Epstein-Barr virus genome. *PLoS Pathog*, 2009, 5: e1000547
- [51] Zeng Z, Huang H, Huang L, et al. Regulation network and expression profiles of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs and their potential target host genes in nasopharyngeal carcinomas. *Sci Chn Life Sci*, 2014, 57: 315-26
- [52] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281-97
- [53] Xie YJ, Long ZF, He XS. Involvement of EBV-encoded BART-miRNAs and dysregulated cellular miRNAs in nasopharyngeal carcinoma genesis. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14: 5637-44
- [54] Lo AK, Dawson CW, Jin DY, et al. The pathological roles of BART miRNAs in nasopharyngeal carcinoma. *J Pathol*, 2012, 227: 392-403
- [55] Marquitz AR, Raab-Traub N. The role of miRNAs and EBV BARTs in NPC. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22: 166-72

- [56] Witkos TM, Koscianska E, Krzyzosiak WJ. Practical aspects of microRNA target prediction. *Curr Mol Med*, 2011, 11: 93-109
- [57] Kuzembayeva M, Hayes M, Sugden B. Multiple functions are mediated by the miRNAs of Epstein-Barr virus. *Curr Opin Virol*, 2014, 7: 61-5
- [58] Li Z, Chen X, Li L, et al. EBV encoded miR-BHRF1-1 potentiates viral lytic replication by downregulating host p53 in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44: 275-9
- [59] Choy EY, Siu KL, Kok KH, et al. An Epstein-Barr virus-encoded microRNA targets PUMA to promote host cell survival. *J Exp Med*, 2008, 205: 2551-60
- [60] Kanda T, Miyata M, Kano M, et al. Clustered microRNAs of the Epstein-Barr virus cooperatively downregulate an epithelial cell-specific metastasis suppressor. *J Virol*, 2015, 89: 2684-97
- [61] Lo AK, To KF, Lo KW, et al. Modulation of LMP1 protein expression by EBV-encoded microRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16164-9
- [62] Ramakrishnan R, Donahue H, Garcia D, et al. Epstein-Barr virus BART9 miRNA modulates LMP1 levels and affects growth rate of nasal NK T cell lymphomas. *PLoS One*, 2011, 6: e27271
- [63] Hsu CY, Yi YH, Chang KP, et al. The Epstein-Barr virus-encoded microRNA MiR-BART9 promotes tumor metastasis by targeting E-cadherin in nasopharyngeal carcinoma. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1003974
- [64] Yan Q, Zeng Z, Gong Z, et al. EBV-miR-BART10-3p facilitates epithelial-mesenchymal transition and promotes metastasis of nasopharyngeal carcinoma by targeting BTRC. *Oncotarget*, 2015, 6: 41766-82
- [65] Lei X, Bai Z, Ye F, et al. Regulation of NF- κ B inhibitor I κ B α and viral replication by a KSHV microRNA. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 193-9
- [66] Qin Z, Jakymiw A, Findlay V, et al. KSHV-encoded microRNAs: lessons for viral cancer pathogenesis and emerging concepts. *Int J Cell Biol*, 2012, 2012: 603961
- [67] Gottwein E, Cullen BR. A human herpesvirus microRNA inhibits p21 expression and attenuates p21-mediated cell cycle arrest. *J Virol*, 2010, 84: 5229-37
- [68] Ziegelbauer JM, Sullivan CS, Ganem D. Tandem array-based expression screens identify host mRNA targets of virus-encoded microRNAs. *Nat Genet*, 2009, 41: 130-4
- [69] Liang D, Gao Y, Lin X, et al. A human herpesvirus miRNA attenuates interferon signaling and contributes to maintenance of viral latency by targeting IKK ϵ . *Cell Res*, 2011, 21: 793-806
- [70] Umbach JL, Cullen BR. In-depth analysis of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNA expression provides insights into the mammalian microRNA-processing machinery. *J Virol*, 2010, 84: 695-703
- [71] Qin Z, Kearney P, Plaisance K, et al. Pivotal advance: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV)-encoded microRNA specifically induce IL-6 and IL-10 secretion by macrophages and monocytes. *J Leukoc Biol*, 2010, 87: 25-34
- [72] Liu X, Happel C, Ziegelbauer JM. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNAs target GADD45B to protect infected cells from cell cycle arrest and apoptosis. *J Virol*, 2017, 91: e02045-16
- [73] Abend JR, Uldrick T, Ziegelbauer JM. Regulation of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis receptor protein (TWEAKR) expression by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNA prevents TWEAK-induced apoptosis and inflammatory cytokine expression. *J Virol*, 2010, 84: 12139-5
- [74] Abend JR, Ramalingam D, Kieffer-Kwon P, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNAs target IRAK1 and MYD88, two components of the toll-like receptor/interleukin-1R signaling cascade, to reduce inflammatory-cytokine expression. *J Virol*, 2012, 86: 11663-74
- [75] Lin X, Liang D, He Z, et al. miR-K12-7-5p encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus stabilizes the latent state by targeting viral ORF50/RTA. *PLoS One*, 2011, 6: e16224
- [76] Bellare P, Ganem D. Regulation of KSHV lytic switch protein expression by a virus-encoded microRNA: an evolutionary adaptation that fine-tunes lytic reactivation. *Cell Host Microbe*, 2009, 6: 570-5
- [77] Lu F, Stedman W, Yousef M, et al. Epigenetic regulation of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency by virus-encoded microRNAs that target Rta and the cellular Rbl2-DNMT pathway. *J Virol*, 2010, 84: 2697-706
- [78] Lu CC, Li Z, Chu CY, et al. MicroRNAs encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus regulate viral life cycle. *EMBO Rep*, 2010, 11: 784-90
- [79] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*, 1999, 189: 12-9
- [80] Cuschieri K, Brewster DH, Graham C, et al. Influence of HPV type on prognosis in patients diagnosed with invasive cervical cancer. *Int J Cancer*, 2014, 135: 2721-6
- [81] Qian K, Pietila T, Ronty M, et al. Identification and validation of human papillomavirus encoded microRNAs. *PLoS One*, 2013, 8: e70202