

DOI: 10.13376/j.cbls/2018067

文章编号: 1004-0374(2018)05-0559-08

ADARs对病毒感染的影响及其作用机制

刘晴晴^{1,2}, 杨振华^{1*}, 龙健儿^{2*}

(1 上海市宝山区中西医结合医院检验科, 上海 201999; 2 复旦大学基础医学院病原生物学系, 上海 200032)

摘要: 双链 RNA 依赖的腺苷酸脱氨酶 (adenosine deaminase acting on RNA, ADAR) 是一组催化双链 RNA 腺苷 (A) 脱氨基产生次黄嘌呤 (I) 的 RNA 编辑酶。ADARs 具有多种功能, 如编辑蛋白质编码区可引起蛋白质功能改变; 编辑非编码区可以控制 mRNA 水平和翻译效率; 编辑 miRNA 前体使其成熟过程被抑制, 编辑 miRNA 靶位点导致下游靶基因沉默; 还可以控制组织发育和造血, 保证器官正常发育等。近年来研究表明, ADARs 在病毒的感染与复制过程中也发挥重要作用, 如 ADARs 可促进 VSV、HDV 等病毒的复制, 而对 MV、HCV 等病毒显示出抗病毒作用。现主要就 ADARs 在病毒感染与复制过程中的作用及其分子机制做一综述。

关键词: ADAR; 病毒感染; 作用机制

中图分类号: Q933; R373 **文献标志码:** A

The role of ADARs in viral infections and its molecular mechanism

LIU Qing-Qing^{1,2}, YANG Zhen-Hua^{1*}, LONG Jian-Er^{2*}

(1 Department of Clinical Laboratory Medicine, Baoshan District Hospital of Integrated

Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai 201999, China; 2 Department of Medical

Microbiology and Parasitology, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Adenosine deaminases acting on dsRNA (ADARs) are RNA editing enzymes, which can bind double-stranded RNAs and convert adenosine (A) to inosine (I). ADARs have a variety of functions, such as editing protein coding regions that can cause changes in protein function; editing non-coding regions to control mRNA levels and translational efficiency; editing miRNA precursors to inhibit their maturation; editing miRNA target sites that can lead to downstream target genes silencing; controlling the development of tissues and hematopoiesis to ensure normal organ development. In recent years, studies have shown that ADARs also play an important role in the process of virus infection and replication. For example, ADARs can promote the replication of viruses such as VSV and HDV, while display antiviral effects on viruses such as MV and HCV. This article mainly reviews the roles and molecular mechanisms of ADARs in virus infection and replication.

Key words: ADAR; viral infections; molecular mechanism

1 概述

RNA 编辑, 如腺苷 (adenosine, A) 到次黄嘌呤 (inosine, I) 的 RNA 编辑, 已被证明在哺乳动物胚胎发育和组织内稳态中发挥重要作用, 并涉及皮肤色素沉着障碍、自身免疫和炎症组织损伤、神经元变性和各种恶性肿瘤的发病机制。双链 RNA 依赖的腺苷酸脱氨酶 (adenosine deaminase acting on RNA, ADAR) 是一组催化双链 RNA 腺苷 (A) 脱氨基产生

次黄嘌呤 (I) 的 RNA 编辑酶, I 在翻译时被识别为鸟嘌呤 (G)。最初 Bass 实验室^[1-2]发现, 腺苷转化

收稿日期: 2017-11-23; 修回日期: 2017-12-13

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)子课题(2015AA021107); 国家自然科学基金项目(31570156); 传染病重大专项基金项目(2012ZX10004503003)

*通信作者: E-mail: shbsyzh@126.com; longjianer@fudan.edu.cn

为次黄嘌呤是 dsRNA 解旋的基础, 并且证明这种转化由 ADARs 介导。哺乳动物 ADAR1 首先从牛肝细胞核提取物中纯化得到^[3]。在哺乳动物中, 目前发现有三种 ADAR 编辑酶, 分别是 ADAR1、ADAR2 和 ADAR3。ADARs 具有多种功能, 如编辑蛋白质编码区可引起蛋白质功能改变; 编辑非编码区可以控制 mRNA 水平和翻译效率; 编辑 miRNA 前体使其成熟过程被抑制; 编辑 miRNA 靶位点导致下游靶基因沉默; 还可以控制组织发育和造血, 保证器官正常发育等。

ADARs 不但能编辑宿主细胞内 dsRNA 分子, 而且可编辑部分病毒 dsRNA^[4]。近来还发现, ADAR1 是 MDA5-MAVS 诱生干扰素生成途径的负调控因子^[5-7], 并且 ADAR1 本身也是干扰素刺激基因 (IFN stimulated genes, ISGs) 之一^[4,8], 提示 ADAR1 在抗病毒感染和免疫应答过程中可能有重要作用。故本文主要就 ADARs 在病毒感染与复制过程中的作用及其分子机制做一综述。

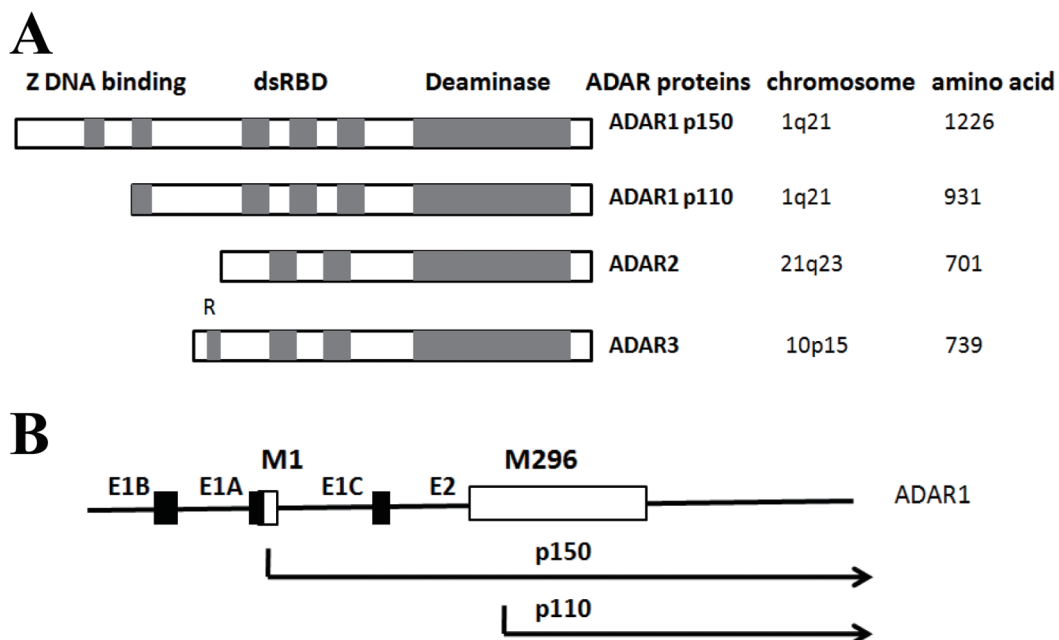
1.1 ADAR基因和结构

在哺乳动物中, 目前发现有三种不同的 ADAR 编辑酶, 分别是 ADAR1、ADAR2 和 ADAR3。人类 ADAR1 基因定位于染色体 1q21, ADAR2 基因定位于染色体 21q22, ADAR3 基因定位于染色体

10p15。ADAR1 和 ADAR2 在很多细胞和组织中表达, 其中脑和脾脏里表达最丰富, 而 ADAR3 仅在大脑中表达。ADAR 蛋白家族结构保守, 包括 N 端双链 RNA 结合结构域 (dsRBDs) 和位于 C 端的催化结构域。各个 ADAR 蛋白又有自身独特的结构: 如 ADAR1 含有两个 Z-DNA 结合域 $Z\alpha$ 和 $Z\beta$, 但 ADAR3 在其 N 端含有一个富含精氨酸的单链 RNA 结合域 (R 结构域) (图 1A)。ADAR1 基因表达两种蛋白异构体: ADAR1 p150 和 ADAR1 p110。其中 ADAR1 p150, 相对分子质量为 150 kDa, 是干扰素刺激基因 (ISGs), 在细胞质和细胞核中都表达; 而 ADAR1 p110, 相对分子质量为 110 kDa, 为组成性表达蛋白, 主要分布于细胞核。ADAR2 也为组成性表达, 主要分布于核仁; ADAR3 不具有编辑酶活性。ADAR1 p150 和 p110 异构体的表达受细胞严格调控 (图 1B): 在 IFN 和 dsRNA 诱导激活后, 从外显子 1A 的甲硫氨酸密码子起始, 可形成长 1 226 个氨基酸的 ADAR1 p150。而组成性表达则从位于外显子 2 的第二个起始密码子开始翻译, 形成长 931 个氨基酸的 ADAR1 p110。

1.2 ADARs的主要功能

有研究指出, ADAR1 的重要功能是调控先天免疫反应, ADAR2 的最重要功能是编辑神经元受



A: 哺乳动物中发现有三种不同的ADAR编辑酶, 分别是ADAR1、ADAR2、ADAR3。ADAR1有两种异构体: ADAR1p150和ADAR1 p110。B: ADAR1异构体的形成调控。外显子1A起始ADAR1 p150, 第二个起始密码子位于外显子2, 起始ADAR1 p110。

图1 ADAR蛋白家族成员的结构及ADAR1异构体的表达调控

体 GluR-B mRNA, 而 ADAR3 不具有编辑酶活性^[9]。ADARs 如果编辑一些基因的蛋白编码区, 可能引起蛋白质功能的显著改变。如 Higuchi 等^[10]发现, 谷氨酸受体 GluR-B 的 Q/R 位点 CAG (谷氨酰胺) 被编辑为 CIG (精氨酸) 后, GluR 离子通道改变而阻止 Ca^{2+} 渗透。Burns 等^[11]发现, 5-羟色胺受体 G 蛋白耦合结构域内的 5 个位点的组合编辑改变了 G 蛋白的耦合功能, 进而改变了 5-羟色胺的亲力和功能效应。另外, ADARs 也编辑非编码区, 比如内含子 Alu 被编辑可能导致 Alu 成为外显子表达, 影响 mRNA 水平和翻译效率^[12-13]。还有研究发现, ADAR1 可编辑组织蛋白酶 S mRNA (CTSS) 转录本的 3'UTR, 能够将稳化的 RNA 结合蛋白人抗原 R (HuR) 募集到 CTSS 转录物的 3'UTR, 从而控制 CTSS mRNA 的稳定性和表达^[14]。此外, ADARs 可以调节 miRNA 的生成和下游靶基因功能。如 Yang 和 Landweber^[15]报道, ADAR 编辑 pri-miRNA-142 后, 导致 Drosha 酶在加工 pre-miRNA 形成过程中被抑制; Liang 等^[16]发现, ADAR 可能通过编辑 miRNA 靶位点导致 miRNA 介导的基因沉默。

ADARs 可能与多器官发育以及与其他一些人类疾病有关。如 Pestal 等^[17]发现 ADAR1 为多器官发育所必需, ADAR1 p150 调控肠内稳态和 B 细胞发育, ADAR1 p110 调控肾脏发育。此外, ADAR1 错义突变可导致致命性自身炎症性疾病 Aicardi-Goutières 综合征 (AGS) 和儿童脑炎等^[18]。

然而也发现, ADARs 可编辑病毒 RNA。如 Suspene 等^[19]分离麻疹病毒 (measles virus) 引起的亚急性硬化性全脑炎 (subacute sclerosing panencephalitis, SSPE) 患者的 MV 基因时, 发现在 M 基因上有大量 A-G 转变。此外, Casey^[20]也发现 ADAR1 在 amber/W 位点对 HDV (hepatitis delta virus, HDV) RNA 进行编辑, 可使终止密码 UAG 琥珀型变成 UGG 色氨酸 (W) 密码子, 产生 HDAg-L。由此可见, ADARs 可能在病毒感染的感染与复制过程中发挥重要作用。

2 ADAR对病毒感染的影响

大量研究表明, ADARs 对 dsRNA 的编辑在病毒感染过程中具有重要意义, 至于是抗病毒作用还是促进病毒感染, 主要与病毒的种类及与宿主的相互作用有关^[21]。ADARs 影响病毒感染可能主要通过三种分子机制: 首先, ADARs 可以直接编辑病毒在复制过程中形成的 dsRNA; 其次, ADARs 还可编辑宿主 RNA 分子, 通过改变宿主因子来影响

宿主和病毒的相互作用; 此外, ADARs 还可能不依靠其编辑功能, 而作为转录调控因子来发挥作用, 通过其与蛋白质或核酸的相互作用而影响病毒感染的。由于不同的 ADARs 分布在细胞内不同部位, 因此病毒存在 A-G (或 U-C) 突变可以依据其在细胞内增殖的部位从而提示是何种 ADAR 起主要作用。如病毒在胞质内增殖, 提示 ADAR1 p150 可能起主要作用, 因为在哺乳动物中 ADAR1 p150 是唯一在胞质中表达的 ADAR 蛋白。而对于在细胞核中增殖的病毒, 如双链 DNA 病毒和正黏病毒, 理论上 ADAR1 的两个异构体 p150 和 p110, 以及 ADAR2 都可能参与对病毒 RNA 的编辑。

2.1 ADARs对负链RNA病毒感染的影响

2.1.1 ADARs对副黏病毒感染的影响

麻疹病毒 (measles virus, MV) 属于副黏病毒科, 麻疹病毒属成员。其基因组包括 6 个基因, 分别是 N、M、F、H、L 和 P/V/C。麻疹病毒通过呼吸道传播主要引起急性感染, 但少数患者可引起严重的中枢神经系统持续性感染并发症, 如 SSPE。早期研究发现, 从 SSPE 患者分离出来的 MV 与急性感染的野生型 MV 不同, SSPE 患者 MV 基因存在 A-G 的高频突变, 主要表现在 M 基因和 F 基因上, M 基因尤甚。同样, Suspene 等^[22]运用新型 3DI-PCR 技术证明减毒麻疹疫苗病毒的 M 基因存在高频突变序列 (表 1)。Suspene 等^[19]也发现在用 MV Schwarz 株感染对 IFN 敏感的 MRC5 细胞时, MV 基因有大量 A-G 的突变, 然而在 MV 感染不产生 I 型 IFN- α 或 β (因此不产生干扰素诱导的 ADAR1 p150) 的 Vero 细胞时, MV 基因无明显 A-G 突变。Pfaller 等^[23]发现, ADAR1 可能编辑 MV 感染过程中形成的缺陷干扰 RNA (defective interfering RNAs, DI-RNAs) (表 1)。未经编辑的双链 DI-RNA 可通过激活蛋白如 MDA5 和 RIG-1 来触发固有免疫应答, 而被编辑的 DI-RNA 可能不稳定, 从而使麻疹病毒逃避免疫监测。然而, Toch 等^[24]用 RNAi 技术把 HeLa 细胞中 ADAR1 p110 和 p150 沉默后, 发现 MV 引起的细胞病变 (CPE) 增强, 诱导细胞 CPE 与病毒激活 PKR 和 IRF3 有关 (表 1), 提示 ADAR1 可能对麻疹病毒具有抗感染作用 (表 1)。另外, Ward 等^[25]将鼠 MEF 细胞 ADAR1 p150 沉默后, 发现 MEF 细胞对 MV 的敏感性增强, MV 引起细胞更多的 CPE (表 1)。此外, 他们还报道, MV 感染的 SSPE 患者的 MV 基因存在 A-G 的高频突变, 这些突变抑制基质蛋白的产生, 导致病毒组装和释放减少, 最终

表1 ADARs影响病毒感染和复制的主要机制

病毒基因型和病毒	对病毒感染的影响及其分子机制	参考文献
负链RNA病毒		
麻疹病毒(measles virus)	A-G; M RNA DI-RNA, 促病毒作用 保护细胞避免产生CPE; 抑制PKR和IRF3活性 抗病毒作用	[22] [23] [24] [25]
新城疫病毒(newcastle disease virus)	保护细胞避免产生CPE	[25]
犬瘟热病毒(canine distemper virus)	保护细胞避免产生CPE	[25]
仙台病毒(Sendai virus)	保护细胞避免产生CPE	[25]
流感病毒(influenza virus)	A-G; HA RNA A-G; M1 RNA 抗病毒作用	[22] [26] [27]
水疱性口炎病毒(vesicular stomatitis virus)	促病毒作用; 抑制PKR活性 对病毒没有作用	[29] [28]
裂谷热病毒(Rift Valley fever virus)	A-G	[19]
淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(<i>Lymphocytic choriomeningitis v.</i>)	A-G; U-C; GP RNA 感染早期对病毒没有作用	[30] [25]
丁型肝炎病毒(hepatitis delta virus)	选择性A-G; amber-W; 正常生理下, 促病毒作用; 过表达ADAR, 抗病毒作用 抗病毒作用	[31] [32]
正链RNA病毒		
丙型肝炎病毒(hepatitis C virus)	抗病毒作用	[35]
人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus 1)	A-G; RRE, 促病毒作用 抑制PKR活性 抗病毒作用; 抑制HIV蛋白合成 靶向HIV RNA降解	[36] [37] [39] [40]
双链RNA病毒		
呼肠孤病毒(reoviruses)	没有影响	[25]
双链DNA病毒		
多瘤病毒(polyoma virus)	A-G; 早期RNA;	[42]
人类疱疹病毒8型(human herpesvirus 8, HHV-8)	A-G; K12 RNA的117990位	[43]
EB病毒(Epstein-Barr virus)	A-G; miR-BART6 A-G; miR-BART3 A-G; OriP转录本	[44] [45] [46]

导致病毒持续感染。此外, 还发现 ADAR1 p150 抗病毒 CPE 效应不仅对 MV, 对副黏病毒科的其他成员, 如新城疫病毒 (Newcastle disease virus)、仙台病毒 (Sendai virus) 和犬瘟热病毒 (canine distemper virus) 都有作用 (表 1)。

2.1.2 ADARs对正黏病毒感染的影

流感病毒 (influenza virus), 属正黏病毒科 (*Orthomyxoviridae*) 成员, Suspene 等^[22] 用 3DI-PCR 技术证明不仅在减毒麻疹疫苗病毒的 M 基因中, 而且在灭活流感疫苗病毒的 HA 基因中都有较多 A-G 突变, 且流感病毒的突变频率要高于麻疹病毒 (表 1)。Tenover 等^[26] 用流感病毒感染正常小鼠,

检测到基质蛋白 M1 RNA 被编辑, 但是用流感病毒感染 IKK ϵ 激酶遗传性缺陷小鼠以及干扰素诱导缺陷的小鼠, 则很少显示 A-G 的突变 (表 1)。Sarvestani 等^[27] 报道, 甲型流感病毒的单链 RNA (ssRNA) 可能通过 dsRNA 中间体被编辑, 编辑后的 ssRNA 被 Toll 样受体 7 (TLR7) 识别, 进而诱导产生 IFN- α (表 1)。因此, 推测 ADAR1 可能通过促进干扰素应答的激活来控制甲型流感病毒的感染。

2.1.3 ADARs对弹状病毒感染的影

水疱性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) 是弹状病毒科成员。Ward 等^[25] 和 Li 等^[28] 在未用干扰素处理的情况下, 发现沉默 ADAR1 基因并不

影响 VSV 的复制。Li 等^[28]在 HEK293 细胞中过表达 ADAR1 或 ADAR2, 也未发现 ADAR 显著影响 VSV 的增殖, 甚至在 VSV 传代 10 代之后(表 1)。另外, Ward 和 Li 等发现 ADAR 基因沉默对 VSV 诱导细胞 CPE 也无显著影响。然而, Nie 等^[29]发现 ADAR1 可通过一种不依赖 dsRNA 编辑的方式促进 VSV 的复制(表 1), 显示 ADAR1 可与 PKR (double stranded RNA-dependent protein kinase, PKR) 相互作用, 并抑制 PKR 的激酶活性。在 PKR^{+/+} 的鼠胚胎成纤维细胞中, ADAR1 可促进 VSV 的感染, 然而在 PKR^{-/-} 细胞中则无此效应。

2.1.4 ADAR对布尼亚病毒和砂粒病毒感染的影响

布尼亚病毒科和砂粒病毒科为分节段单链 RNA 病毒。裂谷热病毒 (Rift Valley fever virus, RVFV) 是布尼亚病毒科成员。RVFV 基因组有大 (L)、中 (M) 小 (S) 3 个 RNA 节段。Suspene 等^[19]运用 3DI-PCR 技术, 并利用 NSs 基因缺陷 RVFV 株感染 MRC5 细胞, 发现在 RVFV 病毒 RNA 中存在多处 A-G 编辑, 但感染 Vero 细胞时, 却无明显的 A-G 编辑, 只有准种 (quasispecies) 的不规则序列变化(表 1)。因为 Vero 细胞为 IFN- α 和 IFN- β 分泌缺陷细胞, 而 MRC5 细胞有完整的干扰素应答。这可能与 RVFV NSs 蛋白可阻断 IFN 产生, 并介导 PKR 蛋白激酶的降解有关。

淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) 是砂粒病毒科成员。LCMV 基因组有 2 个 RNA 节段, 分别称 L RNA 和 S RNA, 由 S RNA 负责编码病毒主要结构蛋白, 即核蛋白 NP (nucleoprotein) 以及膜外的糖蛋白 GP1 和 GP2。Zahn 等^[30]用 LCMV WE 病毒株感染 L929 鼠成纤维细胞, 在感染早期和晚期分析病毒 GP 基因序列, 发现在感染早期 (2 d) 并无特异突变, 但是一周后出现 1 个明显的 A-G 突变, 从而产生无功能的糖蛋白(表 1)。LCMV 感染小鼠的晚期, A-G 突变在脾脏中有着很高的频率。另外, 在 LCMV 感染 L929 细胞和小鼠后, 可上调 ADAR1 p150 的表达。LCMV 在细胞质中复制, 而 p150 主要在细胞质中表达。这些结果提示, 在 LCMV 感染晚期, ADAR1 或具有抗病毒感染作用, 而在感染早期则对病毒感染可能没有明显影响^[25](表 1)。

2.1.5 ADARs对丁型肝炎病毒感染的影响

丁型肝炎病毒 (hepatitis delta virus, HDV) 是一种缺陷负链 RNA 病毒, 必须在 HBV 或其他嗜肝 DNA 病毒的辅助下才能复制增殖。HDV 核衣壳含长

约 1.7 kb 的单股负链环状 RNA 和 HDV 抗原 (HDAg), 在 HDV 核衣壳外, 包被有 HBV 表面抗原 (HBsAg)。HDV 复制过程编码两种抗原, HDAg-S 和 HDAg-L。Casey^[31]发现 ADAR1 在 amber/W 位点对 HDV RNA 进行编辑, 它使终止密码子 UAG 变成 UGG 色氨酸 (W) 密码子, 产生通读, 导致过表达 HDAg-L(表 1)。Amber/W 处正常的 A-I 编辑有利于病毒的复制, 若 ADAR1 过表达则 amber/W 处被过度编辑, 将导致 HDAg-L 的异常表达而使复制过早地终止, 因此对 amber/W 处 A-I 编辑的严格控制是 HDV 复制所必需的(表 1)。Hartwig 等^[32-33]在干扰素抗 HBV 感染的治疗中, 发现 IFN- α 可诱导 ADAR1 产生, 促进 HDV 的编辑, 进而降低了 HDV 的复制(表 1)。然而, Pugnale 等^[34]报道, HDV 感染抑制了 IFN 信号通路, 使 ADAR1 p150 表达降低。因此, ADAR 编辑对 HDV 的感染是起促进或者抑制作用可能取决于病毒基因型、宿主以及 IFN 诱导水平三个因素。

2.2 ADARs对正链RNA病毒感染的影响

2.2.1 ADARs对HCV感染的影响

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 是单股正链 RNA 病毒, 隶属于黄病毒科丙型肝炎病毒属。虽然临床上许多丙型肝炎病毒感染者对 IFN- α 的治疗耐受, 但 Taylor 等^[35]发现具有自我复制能力的 HCV 复制子在体外却对 IFN- α 非常敏感。用 IFN- α 处理含 HCV 复制子的细胞, 细胞产生病毒 RNA 的量明显减少, 而这可能主要与 PKR 和 ADAR1 表达有关。抑制 PKR 和 ADAR1 表达, 则 HCV 复制子 RNA 表达上升, 同时复制子细胞 RNA 的次黄嘌呤数量减少。运用小分子干扰 RNA (siRNA) 特异性抑制 ADAR1, 发现 HCV 复制子表达增加了 40 倍。这些结果提示 ADAR1 可能抑制 HCV RNA 的复制, 其可能通过编辑病毒 RNA 来达到清除 HCV RNA 的目的(表 1)。

2.2.2 ADARs对逆转录病毒感染的影响

人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 即艾滋病病毒, 基因组为两条单正链 RNA 的逆转录病毒, 与艾滋病的发病密切相关。Phuphuakrat 等^[36]发现, 上调 ADAR1 表达可促进 HIV 结构蛋白的表达和病毒的增殖。但是缺失 ADAR1 编辑酶活性的突变体并不能使 HIV-1 p24 表达上调。RNAi 沉默 ADAR1 可以抑制 HIV-1 的增殖(表 1)。为研究 ADAR1 的 RNA 编辑功能, 共转染 pNL4-3 和 ADAR1 表达质粒 pSS151, 分析 HIV 双链区域 TAR 及 RRE 元件的序列变化, 结果

发现过表达 ADAR1 细胞的病毒 RNA 显示出更高频率的 A-G 突变, RRE 的序列下游 (8164-8166) 出现 A-G 突变 (30 个克隆中有 8 个), 而在 TAR 区克隆中并没有重复的编辑位点 (表 1)。另外, 在 8164-8166 处存在 A-G 突变的 pNL4-3 株, 比野生型表达更高水平的 p24 蛋白, 这说明 ADAR1 的编辑功能可能促进 HIV-1 的增殖。Clerzius 等^[37]发现 ADAR1 p150 与 PKR 相互作用并抑制 PKR, 从而逆转 PKR 对 HIV 的抑制作用 (表 1)。而这与 ADAR1 的 Z-DNA 结合域和双链 RNA 结合结构域密切相关, 但与具有 RNA 编辑酶活性的催化结构域关系不大。提示干扰素诱导产生的 ADAR1 p150 和 PKR 在 HIV 感染中的作用是相互拮抗的, 作者推测 ADAR1 和 TRBP (TAR RNA binding protein, TAR RNA 结合蛋白) 可形成一个多蛋白复合体, 这个复合体抑制了 PKR 的活性 (表 1)。Doria 等^[38]发现 ADAR1 可通过编辑酶活性以及非 RNA 编辑酶活性促进 HIV 增殖, 并且过表达 ADAR1 细胞中 HIV-1 病毒释放效率高, 且感染性强, 而编辑功能丧失的 ADAR1 突变体细胞释放 HIV-1 的能力弱且感染性低。而 Biswas 等^[39]报道, ADAR1 对 HIV 具有抗病毒活性 (表 1)。他们发现 ADAR1 编辑 HIV 的 *rev* RNA 和 *env* RNA, 导致 HIV 蛋白合成受到抑制。另外, ADAR1 编辑 *env* 基因导致病毒感染性降低。此外, Weiden 等^[40]发现在 HIV-1 / 结核共感染患者中, 病毒感染诱导 ADAR1 编辑 HIV-1 包膜糖蛋白的 RNA 转录物, 可能靶向调控 HIV-1 RNA 进行降解 (表 1)。

2.3 ADARs对双链RNA病毒感染的影响

呼肠孤病毒 (reoviruses) 是具分节段的双链 RNA 基因组的一类病毒。Ward 等^[25]用呼肠孤病毒感染遗传性缺失 ADAR1 p150 的 MEF 细胞和野生型 MEF 细胞, 发现两种细胞中的病毒载量无显著性差异。此外, 在呼肠孤病毒感染两种 MEF 细胞时使用 IFN 处理, 发现两者病毒载量减少的量仍然无显著性差异。而且 George 和 Samuel^[41]发现 ADAR1 基因沉默对呼肠孤病毒诱导细胞 CPE 无显著影响。这些说明 ADAR1 可能对呼肠孤病毒的感染并没有显著影响 (表 1)。

2.4 ADARs对双链DNA病毒感染的影响

2.4.1 ADARs对多瘤病毒感染的的影响

鼠多瘤病毒 (mouse polyomavirus, PyV) 是双链环状 DNA 病毒, 属于乳多空病毒科, 多瘤病毒属。鼠多瘤病毒早期转录编码 T 抗原, T 抗原对病毒 DNA 的复制起主要调控作用, 而晚期转录主要编

码病毒衣壳蛋白。Gu 等^[42]报道, 在 NIH3T3 细胞中下调 ADAR1 表达, 可以阻碍 PyV 从早期到晚期的转换, 推测 PyV 感染对 ADAR1 的蛋白表达水平比较敏感 (表 1)。为研究 ADAR 对 PyV 感染的影响, George 和 Samuel^[41]在小鼠胚胎成纤维细胞中分别敲除 ADAR1 和 ADAR2 基因, 发现 ADAR1^{-/-}和 ADAR2^{-/-}细胞被 PyV 感染后, 病毒 VP1 蛋白的表达水平没有显著差异, 而 ADAR1^{-/-}细胞中 T 抗原的表达量比 ADAR2^{-/-}细胞高。他们还发现 ADAR1 敲除后病毒引起的细胞病变效应比 ADAR2 敲除后更强, 而回补 ADAR1 p110 可以部分逆转病毒诱导的杀细胞效应。这表明尽管 ADAR1 的缺失促进了 PyV 诱导的细胞病变, 但是 ADAR1 或 ADAR2 的单一缺失对 PyV 的复制并没有显著影响。

2.4.2 ADARs对疱疹病毒感染的的影响

人类疱疹病毒 8 型 (human herpesvirus 8, HHV-8) 是 AIDS 相关的恶性卡波西肉瘤 (Kaposi's sarcoma, KS) 的主要致病因子, 也是原发性渗出性淋巴瘤 (primary effusion lymphoma, PEL) 以及多中心卡斯特莱曼病 (multicentric Caseleman's disease, MCD) 的病原体。HHV-8 感染包括潜伏感染状态和裂解感染状态。K12 转录物是病毒感染潜伏期含量最丰富的转录物。K12 编码可能产生 kaposin A、B、C 以及 miR-K10。其中编码 kaposin A 和 miR-K10 的转录本具有转化细胞致瘤的能力。Gandy 等^[43]报道, 从 PEL 肿瘤细胞中分离出来的 K12 RNA 在 117990 位点存在序列异质性, 在该位置病毒 DNA 序列显示为 A, 而来源于 K12 RNA 转录物的 cDNAs 超过 60% 显示为 G (表 1)。另外, 该位点被编辑的程度随 ADAR1 的表达而增加。他们也发现, 该位点的编辑影响了 kaposin A ORF 的蛋白编码序列, 使第 38 位甘氨酸变成丝氨酸, 也改变了 miR-K-10 的 5' 末端的第二位碱基。ADAR1 对 HHV-8 RNA 编辑使 kaposin A RNA 的转化活性丧失。此外, 该位点被编辑的程度与病毒是否处于复制裂解期有关。在病毒复制裂解期, 该位点被编辑的可能性比潜伏期大约高 10 倍。这些结果表明 RNA 编辑控制了病毒感染潜伏期 K12 转录物的 kaposin A/miR-K10 功能, 并与裂解增殖期有关。

EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 为 4 型人类疱疹病毒, 即 HHV-4。研究发现 90% 以上的成人曾感染过 EB 病毒, 且终身潜伏。一般健康携带者并不发病, 然而少数感染者在数十年之后会引起 EBV 相关的淋巴和上皮细胞恶性肿瘤, 包括鼻咽

癌和胃癌等。EBV 可从 BHRF1 和 BART 两个基因簇编码产生至少 44 个成熟的 miRNAs。在 BART miRNAs 中, miR-BART6 和 miR-BART3 被发现存在 A-I 编辑 (表 1)。Iizasa 等^[44]发现 miR-BART6-5p 可通过多个位点作用于 Dicer 3'UTR, pri-miR-BART6 被编辑后与沉默复合物的结合明显降低, 从而抑制了其 RNAi 活性 (表 1)。这种编辑也同时抑制了 miR-BART6 RNA 本身的加工过程。EBV miR-BART3 也存在 A-I 编辑。Lei 等^[45]报道, 在上皮癌细胞和鼻咽癌临床样本中, pri-miR-BART3 存在四个编辑位点 (表 1)。其中编辑 miRNA 种子序列区第二位阻止 miR-BART3-5p 和 DICE1 mRNA 的结合, 而编辑第三位点则阻碍 miR-BART3 的成熟过程。A-I 编辑不仅影响 miR-BART3 的生成和对靶基因的调控, 也可能对 miR-BART3 在上皮细胞中的表达和功能有明显影响。Cao 等^[46]报道, 在诱导和进入裂解复制周期时表达的 OriP 转录本中存在高度的 A-I 编辑 (表 1), 还发现左旋转录物 OriPtL 在裂解转化过程中也与 ADAR1 相互作用, ADAR1 的直接募集可能是 EBV 裂解过程的重要调控手段。

3 总结

病毒和宿主之间的相互作用非常复杂, 有些病毒利用宿主 ADARs 促进它们的复制, 如 VSV、HDV 等, 因此, 这些病毒都能逃逸包括 PKR 和 IRF3 在内的 IFN 抗病毒作用。而有一些病毒, 比如 MV、HCV 等, 宿主 ADARs 则显示出抗病毒作用, ADARs 可以保护细胞不被病毒诱导 CPE 产生。ADARs 对病毒的作用, 一方面可以依靠其脱氨基催化酶活性直接编辑病毒 RNA, 也可以通过不依赖于其催化活性的方式, 如通过其 Z-DNA 结合域和 dsRNA 结合域与其他宿主因子形成复合物而发挥作用。ADARs 对病毒感染的影响主要与特定病毒和宿主因子之间如何相互作用有关, 其分子机制可能包括固有免疫和适应性免疫的激活与逃逸、相关大分子的合成与降解等 (表 1)。深入研究 ADARs 对病毒感染的影响及其分子机制, 对抗病毒感染治疗, 发现新型药物靶点具有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] Hough RF, Bass BL. Purification of the *Xenopus laevis* double-stranded RNA adenosine deaminase. *J Biol Chem*, 1994, 269: 9933-9
- [2] Bass BL, Weintraub H. An unwinding activity that covalently modifies its double-stranded RNA substrate. *Cell*, 1988, 55: 1089-98
- [3] Kim U, Garner TL, Sanford T, et al. Purification and characterization of double-stranded RNA adenosine deaminase from bovine nuclear extracts. *J Biol Chem*, 1994, 269: 13480-9
- [4] George CX, Gan Z, Liu Y, et al. Adenosine deaminases acting on RNA, RNA editing, and interferon action. *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31: 99-117
- [5] Liddicoat BJ, Chalk AM, Walkley CR. ADAR1, inosine and the immune sensing system: distinguishing self from non-self. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2016, 7: 157-72
- [6] Heraud-Farlow JE, Walkley CR. The role of RNA editing by ADAR1 in prevention of innate immune sensing of self-RNA. *J Mol Med: Berl*, 2016, 94: 1095-102
- [7] Liddicoat BJ, Piskol R, Chalk AM, et al. RNA editing by ADAR1 prevents MDA5 sensing of endogenous dsRNA as nonself. *Science*, 2015, 349: 1115-20
- [8] Mannion NM, Greenwood SM, Young R, et al. The RNA-editing enzyme ADAR1 controls innate immune responses to RNA. *Cell Rep*, 2014, 9: 1482-94
- [9] Wang Q, Li X, Qi R, et al. RNA editing, ADAR1, and the innate immune response. *Genes: Basel*, 2017, 8: 41
- [10] Higuchi M, Single FN, Kohler M, et al. RNA editing of AMPA receptor subunit GluR-B: a base-paired intron-exon structure determines position and efficiency. *Cell*, 1993, 75: 1361-70
- [11] Burns CM, Chu H, Rueter SM, et al. Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature*, 1997, 387: 303-8
- [12] Sakurai M, Yano T, Kawabata H, et al. Inosine cyanoethylation identifies A-to-I RNA editing sites in the human transcriptome. *Nat Chem Biol*, 2010, 6: 733-40
- [13] Lev-Maor G, Sorek R, Levanon EY, et al. RNA-editing-mediated exon evolution. *Genome Biol*, 2007, 8: R29
- [14] Stellos K, Gatsiou A, Stamatelopoulou K, et al. Adenosine-to-inosine RNA editing controls cathepsin S expression in atherosclerosis by enabling HuR-mediated post-transcriptional regulation. *Nat Med*, 2016, 22: 1140-50
- [15] Yang W, Chendrimada TP, Wang Q, et al. Modulation of microRNA processing and expression through RNA editing by ADAR deaminases. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13: 13-21
- [16] Liang H, Landweber LF. Hypothesis: RNA editing of microRNA target sites in humans? *RNA*, 2007, 13: 463-7
- [17] Pestal K, Funk CC, Snyder JM, et al. Isoforms of RNA-editing enzyme ADAR1 independently control nucleic acid sensor MDA5-driven autoimmunity and multi-organ development. *Immunity*, 2015, 43: 933-44
- [18] Gallo A, Vukic D, Michalik D, et al. ADAR RNA editing in human disease; more to it than meets the I. *Hum Genet*, 2017, 136: 1265-78
- [19] Suspene R, Renard M, Henry M, et al. Inverting the natural hydrogen bonding rule to selectively amplify GC-rich ADAR-edited RNAs. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: e72
- [20] Casey JL. RNA editing in hepatitis delta virus. *Curr Top*

- Microbiol Immunol, 2006, 307: 67-89
- [21] Samuel CE. Adenosine deaminases acting on RNA (ADARs) are both antiviral and proviral. *Virology*, 2011, 411: 180-93
- [22] Suspene R, Petit V, Puyraimond-Zemmour D, et al. Double-stranded RNA adenosine deaminase ADAR-1-induced hypermutated genomes among inactivated seasonal influenza and live attenuated measles virus vaccines. *J Virol*, 2011, 85: 2458-62
- [23] Pfaller CK, Mastorakos GM, Matchett WE, et al. Measles virus defective interfering RNAs are generated frequently and early in the absence of C protein and can be destabilized by adenosine deaminase acting on RNA-1-like hypermutations. *J Virol*, 2015, 89: 7735-47
- [24] Toth AM, Li Z, Cattaneo R, et al. RNA-specific adenosine deaminase ADAR1 suppresses measles virus-induced apoptosis and activation of protein kinase PKR. *J Biol Chem*, 2009, 284: 29350-6
- [25] Ward SV, George CX, Welch MJ, et al. RNA editing enzyme adenosine deaminase is a restriction factor for controlling measles virus replication that also is required for embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 331-6
- [26] Tenoever BR, Ng SL, Chua MA, et al. Multiple functions of the IKK-related kinase IKK ϵ in interferon-mediated antiviral immunity. *Science*, 2007, 315: 1274-8
- [27] Sarvestani ST, Tate MD, Moffat JM, et al. Inosine-mediated modulation of RNA sensing by Toll-like receptor 7 (TLR7) and TLR8. *J Virol*, 2014, 88: 799-810
- [28] Li Z, Wolff KC, Samuel CE. RNA adenosine deaminase ADAR1 deficiency leads to increased activation of protein kinase PKR and reduced vesicular stomatitis virus growth following interferon treatment. *Virology*, 2010, 396: 316-22
- [29] Nie Y, Hammond GL, Yang JH. Double-stranded RNA deaminase ADAR1 increases host susceptibility to virus infection. *J Virol*, 2007, 81: 917-23
- [30] Zahn RC, Schelp I, Utermohlen O, et al. A-to-G hypermutation in the genome of lymphocytic choriomeningitis virus. *J Virol*, 2007, 81: 457-64
- [31] Casey JL. Control of ADAR1 editing of hepatitis delta virus RNAs. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2012, 353: 123-43
- [32] Hartwig D, Schoeneich L, Greeve J, et al. Interferon- α stimulation of liver cells enhances hepatitis delta virus RNA editing in early infection. *J Hepatol*, 2004, 41: 667-72
- [33] Hartwig D, Schutte C, Warnecke J, et al. The large form of ADAR 1 is responsible for enhanced hepatitis delta virus RNA editing in interferon-alpha-stimulated host cells. *J Viral Hepat*, 2006, 13: 150-7
- [34] Pugnale P, Paziienza V, Guilloux K, et al. Hepatitis δ virus inhibits alpha interferon signaling. *Hepatology*, 2009, 49: 398-406
- [35] Taylor DR, Puig M, Darnell ME, et al. New antiviral pathway that mediates hepatitis C virus replicon interferon sensitivity through ADAR1. *J Virol*, 2005, 79: 6291-8
- [36] Phuphuakrat A, Kraiwong R, Boonarkart C, et al. Double-stranded RNA adenosine deaminases enhance expression of human immunodeficiency virus type 1 proteins. *J Virol*, 2008, 82: 10864-72
- [37] Clerzius G, Gelinas JF, Daher A, et al. ADAR1 interacts with PKR during human immunodeficiency virus infection of lymphocytes and contributes to viral replication. *J Virol*, 2009, 83: 10119-28
- [38] Doria M, Neri F, Gallo A, et al. Editing of HIV-1 RNA by the double-stranded RNA deaminase ADAR1 stimulates viral infection. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 5848-58
- [39] Biswas N, Wang T, Ding M, et al. ADAR1 is a novel multi targeted anti-HIV-1 cellular protein. *Virology*, 2012, 422: 265-77
- [40] Weiden MD, Hoshino S, Levy DN, et al. Adenosine deaminase acting on RNA-1 (ADAR1) inhibits HIV-1 replication in human alveolar macrophages. *PLoS One*, 2014, 9: e108476
- [41] George CX, Samuel CE. Host response to polyomavirus infection is modulated by RNA adenosine deaminase ADAR1 but not by ADAR2. *J Virol*, 2011, 85: 8338-47
- [42] Gu R, Zhang Z, DeCervo JN, et al. Gene regulation by sense-antisense overlap of polyadenylation signals. *RNA*, 2009, 15: 1154-63
- [43] Gandy SZ, Linnstaedt SD, Muralidhar S, et al. RNA editing of the human herpesvirus 8 kaposin transcript eliminates its transforming activity and is induced during lytic replication. *J Virol*, 2007, 81: 13544-51
- [44] Iizasa H, Wulff BE, Alla NR, et al. Editing of Epstein-Barr virus-encoded BART6 microRNAs controls their dicer targeting and consequently affects viral latency. *J Biol Chem*, 2010, 285: 33358-70
- [45] Lei T, Yuen KS, Tsao SW, et al. Perturbation of biogenesis and targeting of Epstein-Barr virus-encoded miR-BART3 microRNA by adenosine-to-inosine editing. *J Gen Virol*, 2013, 94: 2739-44
- [46] Cao S, Moss W, O'Grady T, et al. New noncoding lytic transcripts derived from the Epstein-Barr virus latency origin of replication, oriP, are hyperedited, bind the paraspeckle protein, NONO/p54nrb, and support viral lytic transcription. *J Virol*, 2015, 89: 7120-32