

宿主-病毒在 miRNA 水平上的相互作用

郑玉姝* 赵朴 贾贝贝 刘兴友

(河南科技学院动物科学学院 新乡 453003)

摘要: 微 RNA(microRNA, miRNA)是近来发现的重要基因调节子,在许多生物学过程包括抗病毒防御中发挥着重要作用。越来越多的证据表明一些病毒或者编码它们自己的 miRNAs 或者颠覆细胞 miRNAs。由此,宿主和病毒编码 miRNAs 及其靶标形成了宿主和病毒间新一调节层面的相互作用。深入理解宿主-病毒间 miRNAs 介导的相互作用,不仅有利于阐明病毒致病的分子基础,而且有利于制定更好的治疗策略。

关键词: 宿主, 病毒, 相互作用, miRNA

Host-virus Interaction at the miRNA Level

ZHENG Yu-Shu* ZHAO Pu JIA Bei-Bei LIU Xing-You

(Department of Animal Science and Technology, He'nan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003)

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are recently discovered major regulators of gene expression, which play a pivotal role in a wide spectrum of biological processes including antiviral defence. There is growing evidence that some viruses either encode their own viral miRNAs or subvert cellular miRNAs. The host- and virus-encoded miRNAs and their targets together thus form a novel regulatory layer of interactions between the host and the virus. A better understanding of host-virus interaction mediated by miRNAs would not only enable us to unravel the molecular basis of viral pathogenesis, but also enable us to develop better therapeutic strategies.

Keywords: Host, Virus, Interaction, miRNA

miRNA 是近年来发现的一类非编码调节小 RNA, 这些大约 22 nt 长的小 RNA 以序列特异性方式调节基因表达, 从而参与多种重要生物学过程, 包括抗病毒反应。近来, 研究发现许多病毒也编码 miRNA。因此, 宿主和病毒编码 miRNA 及其靶标在宿主和病毒间形成了新一层面的相互作用。深入理解宿主和病毒间在 miRNA 水平上的“对话”不仅有助于理解病毒致病的分子基础, 而且能使我们发现药物设计的靶标, 乃至开发更好的治疗策略。因此,

本文就对宿主-病毒在 miRNA 水平上的相互作用的最新研究进展做以综述。

1 宿主细胞 miRNA 的抗病毒防御功能

miRNA 是重要的基因调节子, 在发育、分化、凋亡和肿瘤发生等多种生物学过程中发挥重要作用, 随着 miRNA 功能的深入研究, 越来越多的证据表明 miRNA 还有抗病毒防御功能。与高等植物中 miRNA 抗病毒作用得到广泛认可相比, 近来才有 miRNA 在

哺乳动物中抗病毒的试验证据。Pedersen等^[1]报道β-干扰素(interferon beta, IFN-β)迅速调节许多细胞miRNAs, 其中8个miRNAs在丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)基因组RNA中具有序列预测靶标。导入对应于这些IFN-β诱导miRNAs合成的人工miRNA, 再现了IFN-β对HCV复制的抗病毒效应, 而用反义miRNA对这些抗病毒miRNA的中和作用则降低了IFN-β对HCV的抗病毒效应。此外, IFN-β治疗可导致肝特异性miR-122(HCV复制所必需的miRNA)表达显著降低。这些结果表明哺乳动物能通过干扰素系统利用细胞miRNA对抗病毒感染。另有研究表明, Dicer1(参与生成miRNA的酶)等位基因变异(Dicer1(d/d))的小鼠, 由于miRNA产生受损, 对水泡性口膜炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)感染更敏感。进一步研究发现, 宿主miR24和miR93能靶向病毒大蛋白(L protein)和磷蛋白(P protein)基因, 因此Dicer1缺陷导致miR24和miR93的缺失是细胞中VSV复制增加的原因^[2], 这说明宿主miRNA具有抗VSV作用。

2 病毒对宿主 RNAi 的干扰作用

病毒与它们的宿主已经共进化了上百万年, 在宿主细胞的“敌对”环境中, 病毒发展了许多不同的策略干扰宿主的抗病毒反应。因此, 在宿主RNA干扰(RNA interference, RNAi)作用下, 许多病毒进化出种种干扰机制干扰miRNA和小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)通路引起的RNAi, 并不出人意料, 这方面也得到了试验的进一步证实。这也从另一方面说明细胞miRNA确实具有抗病毒防御功能。

转录激活反应元件(trans-activation response element, TAR) RNA结合蛋白(TAR RNA-binding protein, TRBP)是近来发现的Dicer必需伴侣和RNA诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)的重要组成部分。HIV-1编码的TAR, 以高亲和力结合人的TRBP。Bennasser等^[3]研究表明转染TAR RNA能降低人细胞内的RNAi作用。进一步分析显示TAR RNA封闭TRBP导致Dicer-RISC复合物得不到TRBP。在表达外源TRBP的转染细胞中TAR诱导的Dicer-RISC活性抑制可部分减弱。由此可见, HIV-1编码的TAR是一个RNAi抑制子。

为干扰细胞的RNAi效应, HIV-1已经将Tat蛋白进化成了一个有RNA沉默功能的抑制子^[4]。进一步分析表明, Tat可通过阻止Dicer将前体dsRNA加工成

siRNAs而消除细胞的RNAi防御功能。最近, Haasnoot等^[5]研究表明在哺乳动物细胞中埃博拉病毒VP35蛋白是RNAi抑制子, 并且其RNAi抑制子活性在功能上相当于HIV-1 Tat蛋白, VP35能代替HIV-1 Tat, 帮助Tat缺失HIV-1变异株复制。

3 病毒 miRNA(viral miRNA, vmiRNA)的基因调节作用

近来研究表明, 许多病毒利用宿主细胞内源miRNA生物合成机器, 生成vmiRNA, 这说明病毒也利用miRNA这一重要的基因调控模式。尽管绝大多数vmiRNAs的调控功能还不知道, 但是至少有一部分vmiRNA能调节自身基因或者细胞基因表达以创造更有益于病毒生存的环境, 在病毒生活周期中发挥重要作用。

3.1 vmiRNA 对自身基因的调节作用

SV40在感染晚期主要表达vmiRNA, 并大量积累, 这些vmiRNA互补于大T抗原导致大T抗原转录物裂解, 降低感染过程中大T抗原的水平, 从而降低了病毒感染细胞对细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)裂解的敏感性^[6]。Klase等^[7]研究表明HIV病毒mRNA 5'端大约50 nt的发夹结构——HIV-1 TAR被RNAi机器识别并加工成vmiRNA。利用生物素标记TAR RNA, 发现Dicer特异性结合于TAR。在体外, TAR转录物能被重组Dicer裂解产生miRNA。进一步研究表明TAR衍生miRNA可能调节病毒基因表达, 促进病毒潜伏。

最近, Grey等^[8]鉴定了人巨细胞病毒(human cytomegalovirus HCMV)编码miRNA miR-UL112-1的3个病毒mRNA靶标, 包括编码IE72的主要立早期(major immediate early, MIE)基因, UL112/113和UL120/121, 它们是病毒基因组MIE区域最丰富的转录物, 对诱导病毒早期和晚期基因表达非常重要, 而且为病毒有效复制所必需。进一步分析表明IE72的翻译抑制依赖于mRNA的3' UTR序列。HCMV感染中miR-UL112-1的过早表达导致病毒基因组DNA水平显著降低, 这表明了miR-UL112-1在调节参与病毒复制基因中的作用。这些数据表明vmiRNA能调节多个病毒基因, 并且对病毒的复制具有重要影响。

3.2 病毒 miRNA 对宿主基因的调节作用

主要组织相容性复合物I相关B链(major histocompatibility complex class I-related chain B, MICB)是自然杀伤(natural killer, NK)细胞激活受体

NKG2D 的一个胁迫诱导配体, 并且对 NK 细胞杀伤病毒感染细胞和肿瘤细胞很重要。Stern-Ginossar 等^[9]研究表明 MICB 基因为 HCMV miR-UL112 的最可能候选靶标。在病毒感染期间 HCMV miR-UL112 特异性下调 MICB 表达, 导致 NKG2D 结合和 NK 细胞杀伤作用下降。这表明基于 miRNA 的免疫逃避机制已经被 HCMV 所利用。Gupta 等^[10]鉴定了 HSV-1 编码的一个 miRNA, 它能抑制转化生长因子 (transforming growth factor, TGF) β 1 和 SMAD3 翻译, 保护感染细胞免于凋亡, 从而有助于 HSV 在感觉神经中持续潜伏感染。

卡波济(氏)肉瘤相关疱疹病毒(Kaposi sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)是与卡波济(氏)肉瘤相关的疱疹病毒, 近来发现, KSHV 在其潜伏相关区编码 12 个 miRNAs。表达 KSHV miRNAs 细胞的微点阵分析表明 81 个基因表达显著改变。多数变化在 2 倍以下, 但有 8 个基因下调 4 到 20 倍之间。其中一个靶标血小板反应素(thrombospondin, THBS)1 是血管生长的有效抑制因子, 并且在卡波济(氏)肉瘤中下调。病毒 miRNA 表达引起的 THBS1 表达下降能导致 TGF- β 活性下降。这些数据表明 KSHV 编码的 miRNA 能通过下调细胞粘附、迁移和血管发生重要调节因子 THBS1 而直接促使疾病发生^[11]。

4 展望

病毒是专一细胞内寄生病原体, 与它们的宿主已经共进化了数百万年, 在共进化过程中, 病毒为了在宿主细胞中广泛地增殖、持续存在及感染新的宿主从而作为一个种群生存下来, 它们与宿主间存在着广泛的相互作用——复杂的宿主免疫系统对病毒的清除作用和病毒的抗清除作用(如干扰抗原呈递、下调共刺激分子、分子模拟和抗原变异等)。近来, 研究发现宿主和病毒编码 miRNA 及其靶标在 miRNA 水平上形成了宿主和病毒间错综复杂的相互作用, 体内的这种“对抗”作用指出了通向 miRNA 治疗的第一步——通过 miRNA 失活致病基因或病毒 miRNA, 或者恢复功能性 miRNA, 从而达到疾病治疗的目的, 并且基于 miRNA 调节最终设计分子药物的前景很好。

尽管宿主-病毒间在 miRNA 水平上的相互作用才刚刚被认识, 但是给我们理解病毒的致病机制、寻找药物设计的靶标和建立 miRNA 疗法提供了巨大的机遇。近来 Dave 等^[12]证明针对痘苗病毒 dsRNA 结合蛋白 E3L RNAi 抑制子的 siRNA 产生了有效的抗天

花及相关痘病毒的效应。肝特异性 miR-122 能促进 HCV 复制, 提示 miR-122 能作为抗病毒治疗的靶标。研究表明利用 miR-122 的拮抗物有效、特异和选择性地降低了细胞中 HCV RNA 丰度^[13]。相信, 随着 miRNA 的不断深入研究, 病毒和宿主在这一新层面上相互作用的复杂画面将会不断呈现, 最终为我们预防和治疗这些病毒性疾病奠定基础。

参考文献

- [1] Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, *et al.* Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature*, 2007, **449**(7164): 919–922.
- [2] Otsuka M, Jing Q, Georgel P, *et al.* Hypersusceptibility to vesicular stomatitis virus infection in Dicer1-deficient mice is due to impaired miR24 and miR93 expression. *Immunity*, 2007, **27**(1): 123–134.
- [3] Bennisser Y, Yeung ML, Jeang KT. HIV-1 TAR RNA subverts RNA interference in transfected cells through sequestration of TAR RNA-binding protein, TRBP. *J Biol Chem*, 2006, **281**(38): 27674–27678.
- [4] Bennisser Y, Le SY, Benkirane M, *et al.* Evidence that HIV-1 encodes an siRNA and a suppressor of RNA silencing. *Immunity*, 2005, **22**(5): 607–619.
- [5] Haasnoot J, de Vries W, Geutjes E J, *et al.* The Ebola virus VP35 protein is a suppressor of RNA silencing. *PLoS Pathog*, 2007, **3**(6): 794–803.
- [6] Sullivan CS, Grundhoff AT, Tevethia S, *et al.* SV40-encoded microRNAs regulate viral gene expression and reduce susceptibility to cytotoxic T cells. *Nature*, 2005, **435**(7042): 682–686.
- [7] Klase Z, Kale P, Winograd R, *et al.* HIV-1 TAR element is processed by Dicer to yield a viral micro-RNA involved in chromatin remodeling of the viral LTR. *BMC Mol Biol*, 2007, **8**: 63.
- [8] Grey F, Meyers H, White EA, *et al.* A human cytomegalovirus-encoded microRNA regulates expression of multiple viral genes involved in replication. *PLoS Pathog*, 2007, **3**(11): e163.
- [9] Stern-Ginossar N, Elefant N, Zimmermann A, *et al.* Host immune system gene targeting by a viral miRNA. *Science*, 2007, **317**(5836): 376–381.
- [10] Gupta A, Gartner JJ, Sethupathy P, *et al.* Anti-apoptotic function of a microRNA encoded by the HSV-1 latency-associated transcript. *Nature*, 2006, **442**(7098): 82–85.
- [11] Samols MA, Skalsky RL, Maldonado AM, *et al.* Identification of cellular genes targeted by KSHV-encoded microRNAs. *PLoS Pathog*, 2007, **3**(5): e65.
- [12] Dave RS, McGettigan JP, Qureshi T, *et al.* SiRNA targeting vaccinia virus double-stranded RNA binding protein [E3L] exerts potent antiviral effects. *Virology*, 2006, **348**(2): 489–497.
- [13] Shan Y, Zheng J, Lambrecht RW, *et al.* Reciprocal effects of micro-RNA-122 on expression of heme oxygenase-1 and hepatitis C virus genes in human hepatocytes. *Gastroenterology*, 2007, **133**(4): 1166–1174.