

细胞内源 miRNAs 影响副黏病毒功能研究进展

钟纯燕^{1,2} 李基棕^{3,4*} 保丹东⁵ 杨斌¹ 赵庆亮¹
卢梅¹ 谭艳¹ 主性²

1.黔西南民族职业技术学院,贵州兴义 562400;2.贵州大学动物科学学院,贵阳 5500252;
3.江苏省农业科学院兽医研究所,南京 210014;4.农业部兽用生物制品工程技术重点实验室,
南京 210014;5.贵州省望谟县大观镇人民政府,贵州望谟 552305

摘要 自 2001 年 miRNAs 被正式命名以来,对于 miRNAs 的研究已体现在病毒学研究的各个领域。目前的研究结果表明,细胞内源 miRNAs 能够影响副黏病毒免疫反应、细胞分裂与细胞凋亡、肿瘤生成等生物学过程。本文总结了细胞内源 miRNAs 对副黏病毒作用的靶基因及其功能,以期为进一步剖析副黏病毒的致病机制提供理论支持。

关键词 细胞内源 miRNA;副黏病毒;靶基因;功能

MicroRNAs (miRNAs) 是一类内源性非编码 RNA,长度 19~24 nt,它的种子区在进化上高度保守,转录后可以引发基因沉默或影响细胞的生长特性,在细胞分化、代谢、增殖及凋亡的各个环节中起重要作用,并参与肿瘤形成、生殖发育及病毒感染等过程。研究表明,成熟的 miRNAs 被 RNA 诱导的沉默复合物(RISC)识别后,与靶 mRNA 碱基互补结合,降解 mRNA 或抑制 mRNA 翻译成蛋白质,发挥基因转录后的调节功能。总的来说,一种 miRNA 调节的靶基因可超过 100 种,并且一半以上的转录物能被 2 个以上 miRNAs 协同调节,形成庞大的调节网络,因而对于 miRNAs 靶基因的研究以及 miRNAs 造成的生物学功能的影响值得我们深入探索。在 2000 年,黄元桐在《一种新的病毒病——尼帕病毒脑炎》中提出尼帕病毒(NiV)属于副黏病毒亚科的亨尼帕病毒属的成员^[1],自此以后有研究报道细胞内源 miRNAs 对 NiV 功能的影响,从而拉开了细胞内源

miRNAs 对副黏病毒功能研究的篇章。

副黏病毒是一类单股负链 RNA 病毒,病毒颗粒呈多形性,有囊膜及纤突,核衣壳为螺旋状对称,可分为副黏病毒亚科和肺病毒亚科,主要成员包括副黏病毒属、麻疹病毒属、腮腺炎病毒属及肺病毒属。副黏病毒能在细胞内形成包涵体、合胞体,对细胞有吸附作用,因此展开细胞内源 miRNAs 对副黏病毒功能的研究显得尤为重要。目前已有研究表明,细胞内源 miRNAs 参与调节副黏病毒感染、增殖及细胞分裂、肿瘤形成等众多环节。因此,本文全面总结了细胞内源 miRNAs 影响副黏病毒致病作用及其功能体现,为进一步阐明副黏病毒在宿主体内的致病机制提供新的方向。

1 细胞内源 miRNAs 在副黏病毒免疫反应中的作用

干扰宿主细胞因子网络是副黏病毒为了在宿

收稿日期:2020-09-03

基金项目:国家自然科学基金项目“MiR-222 调控 I 型干扰素影响山羊副流感病毒 3 型复制的分子机制研究”(31702272)

* 通讯作者

钟纯燕,女,1992 年生,硕士,讲师。

主体内生存,在进化过程中形成的逃避机体免疫的一种能力。感染副黏病毒后宿主细胞会以各种方式来防御病毒的入侵,如分泌不同活性的小分子蛋白——细胞因子来调节调控宿主的免疫反应。miRNAs 在 IFN 和干扰素刺激基因(ISGs)的调节过程中起关键作用,当病毒感染细胞时,其信号通路中的每个节点都可能作为 miRNAs 的靶点。研究发现仙台病毒(SV)可作为 IFN 的强诱导剂,感染 SV 后通过 IFN 处理,检测发现 miR-203 在感染细胞中能够发生积累;Li 等^[2]的试验结果显示,miR-4661 可直接靶向 IFN- α 的表达来抑制宿主抗病毒天然免疫应答;Ingle 等^[3]提出病毒 RNA 的胞浆感受器——维甲酸诱导基因-I 样受体(RIG-I like receptors, RLRs)的激活可诱导抗病毒的免疫应答,miR-485 在感染新城疫病毒(NDV)的细胞内可直接靶向 RIG-I 的 mRNA 并将其降解,使 NDV 实现免疫逃避,从而提高 NDV 的复制水平。以上研究结果表明,miRNAs 在感染副黏病毒的细胞中发挥了重要的调节作用。

在麻疹疫苗的体液免疫中,miR-5P、miR-223、miR-29、miR-15a-5P、miR-199a-3p、miR-103a 和 miR-15a 有着直接或间接的影响,由此研究人员还提出 miRNAs 可以作为疫苗体液免疫应答的预测生物标志物。Foo 等^[4]报道称 miRNAs 可以作为靶分子来促进病毒的增殖,并报道称 miR-181 与 miR-17~93 家族的成员对亨德拉病毒(HeV)的感染起促进作用,而这主要是过表达 miR-181 能够抑制调节因子 EphB 4、EPHA 5、EphA 7 的表达,检测还发现 miR-181 在感染 HeV 的雪貂和马的体液中水平上调。本研究团队通过高通量测序分析探讨了山羊副流感病毒 3 型(CPIV3)接种 MDBK 细胞的 miRNAs 表达谱变化,鉴定了差异表达显著的 249 个已知 miRNAs 和 152 个新 miRNAs,靶基因预测与功能分析发现这些 miRNAs 参与调控 CPIV3 的复制及宿主细胞的先天免疫应答。以上结果均表明 miRNAs 在副黏病毒的免疫反应过程中起到关键作用。

2 细胞内源 miRNAs 在细胞分裂与细胞凋亡中的作用

麻疹病毒(MV)除感染多种淋巴和非淋巴外周器官外,还会持续感染中枢神经系统(CNS)细胞。研究^[5]表明,miR-124 是中枢神经系统中最具特征的

miRNAs 之一,在感染 MV 的分化型神经元细胞及神经肿瘤细胞中 miRNA-124 表达升高,周期蛋白依赖性激酶 6(CDK6)表达减少。外周血淋巴细胞(PBL)感染 MV 后,CDK6 表达降低从而引起了细胞周期阻滞,使 PBL 表现出分裂和凋亡低敏感性的特征;因此,研究者们大胆提出 MV 能持续感染神经母细胞瘤细胞是由 miR-124 下调 CDK6 表达水平实现的,这是首次研究报道 miRNAs 对 MV 的持续感染机制。以上结果揭示了宿主 miRNAs 在 CNS 衍生细胞中诱导 MV 持续感染的作用机制,为预防或解决病毒持续感染提供新的分子靶点。

研究者还发现 5 种 NDV 结构蛋白 RNAs 以 RNAi 技术进行靶向和敲除,得出感染 NDV 鸡成纤维(DF-1)细胞中的 NP mRNA 含量能被过表达 miR-NP 而降低,而且过表达 miR-NP 还能抑制 NDV 在细胞中的增殖水平和降低细胞死亡^[6]。此研究为动物机体抵御 NDV 感染提供了新的科学思路。

3 细胞内源 miRNAs 对肿瘤生成的影响

溶瘤病毒包括腺病毒(Adenovirus)、呼肠孤病毒(RV)、NDV 和 MV 等病毒,MV 是一种新型的具有抗肿瘤活性的溶瘤病毒。miRNAs 调控脊髓灰质炎病毒受体 4(PVRL4)研究中揭示了 MV 抗肿瘤的作用机制,是 miR-31 和 miR-128 的靶向 PVRL4,过表达 miR-31/128 能降低 MV 的感染,抑制表达 miR-31/128 则提高 MV 的增殖。以上结果表明,miR-128 和 miR-31 靶向 PVRL4 调节 MV 的复制和感染,达到增强 MV 抗肿瘤作用的目的。将合成的 miRNAs 插入 MV 基因组中,建立 miRNAs 靶位点(miRTS)植入靶向系统,结果表明,插入 miR-122、miR-148a 或 miR-7 后,在细胞株、肝片和原代人肝细胞中 MV-EGFP(MTD)的复制受到抑制,表明了 miRNAs 在胰腺癌模型中对肿瘤的生成有重要作用。此外,研究还发现^[7]miR-7 通过抑制 MV 包膜蛋白的翻译,从而限制病毒的传播和子代病毒的产生,影响异种胶质母细胞瘤的生成。以上结果均表明 miRNAs 对肿瘤生成具有重要的影响。

4 细胞内源 miRNAs 对副黏病毒的其他功能

细胞内源 miRNAs 在副黏病毒的功能基因组

学、荧光检测系统和转基因诱导方面均有作用。2017 年研究报道在 HeV 和 NiV 的感染和疾病中, 利用 RNAi 技术沉默 miRNAs 靶基因, 对探索免疫调节剂和宿主核蛋白具有重要意义。SV 的 miRNAs 荧光检测系统能对 miRNAs 在细胞重编程过程中的表达进行评估。携带 4 种重编程因子(SeVdp-iPS) 的 SV 载体对转基因诱导多能干细胞(IPSCs) 的产生起关键作用, 而 miR-302 对 SeVdp-iPS 载体的影响使其只能在 IPSCs 中表达, 这就预示 SeVdp-iPS 载体可能成为产生诱导多能干细胞的工具在将来应用于临床。

5 展 望

近年来, 对细胞内源 miRNAs 影响副黏病毒的机制研究主要体现在调节病毒生命周期、促细胞存活、免疫反应和肿瘤发生等方面, 靶对象主要集中在人的 MV、SV、HeV 和 NiV 上, 关于细胞内源 miRNAs 对动物感染副黏病毒的研究目前限于 CPIV3 和 NDV 的报道, 细胞内源 miRNAs 对大多数副黏病毒, 如犬瘟热病毒(CDV)及小反刍兽疫病毒(PPRV) 等的调控机制仍不清楚。由于此类病毒宿主广泛, 被感染的动物常出现呼吸道和消化道疾病, 造成较高发病率和死亡率, 因此, 进一步研究细胞内源 miRNAs 对副黏病毒的功能, 阐明其调控网络, 可能成为未来研究的热点。随着全面而深入的剖析细胞内源 miRNAs 对病毒的调控网络, 细胞内的 miRNAs 将

有望应用于抗肿瘤、抗病毒感染以及基因治疗的有效工具。

参 考 文 献

- [1] 黄元桐. 一种新的病毒病-尼帕病毒肺炎 [J]. 山西医药杂志, 2000, 29(2):91.
- [2] LI Y, FAN X, HE X, et al. MicroRNA-466l inhibits antiviral innate immune response by targeting interferon- α [J]. Cell Mol Immunol, 2012, 9(6):497.
- [3] INGLE H, KUMAR S, RAUT A A, et al. The microRNA miR-485 targets host and influenza virus transcripts to regulate antiviral immunity and restrict viral replication [J]. Sci Signal, 2015, 8(406):ra126.
- [4] FOO C H, ROOTES C L, COWLEY K, et al. Dual microRNA screens reveal that the immune-responsive miR-181 promotes henipavirus entry and cell-cell fusion [J]. PloS pathog, 2016, 12(10):e1005974.
- [5] RADER J A, RUSSELL M R, HART L S, et al. Dual CDK4/CDK6 Inhibition Induces Cell Cycle Arrest and Senescence in Neuroblastoma[J]. Clin cancer res, 2013, 19(22):6173-6182.
- [6] HUTCHESON J M, SUSTA L, STICE S L, et al. Delayed Newcastle disease virus replication using RNA interference to target the nucleoprotein[J]. Biologicals, 2015, 43(4):274-280.
- [7] LEBER M F, BOSSOW S, LEONARD V H, et al. MicroRNA-sensitive oncolytic measles viruses for cancer-specific vector tropism[J]. Mol Ther, 2011, 19(6):1097-1106.

【责任编辑:胡 敏】