

DNA病毒介导肿瘤发生的表观遗传机制

胡玉倩, 郑义, 宁勇, 郝娟, 谢圣高

Epigenetic Mechanism of DNA Virus-mediated Carcinogenesis

HU Yuqian, ZHENG Yi, NING Yong, XI Juan, XIE Shenggao

School of Laboratory Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

Corresponding Author: XI Juan, E-mail: xijuan_78love@126.com; XIE Shenggao, E-mail:

xiesg100@163.com



Abstract: Various kinds of virus could lead to carcinogenesis. Although those viruses belong to different viraceae, the molecular mechanisms they have evolved to cause tumor initiation show many similarities, which are targeting the key cellular proteins that regulate cell growth and proliferation. The interactions between virus and hosts occur at epigenetic level. This review summarizes the epigenetic mechanism of DNA virus proteins contributing to carcinogenesis.

Key words: Virus; Epigenetic; Carcinogenesis; Methylation; miRNA

摘 要: 许多病毒感染可导致肿瘤发生, 这些病毒虽隶属于不同种属, 但其进化出的分子干扰机制却有共通之处, 即靶向调控与细胞生长和增殖相关的关键蛋白。病毒和宿主之间的相互作用也发生于表观遗传水平。本文对DNA病毒导致癌症发生的表观遗传机制进行综述。

关键词: 病毒; 表观遗传; 肿瘤发生; 甲基化; miRNA

中图分类号: R730.231[†].3 **文献标识码:** A

0 引言

近50年的癌症研究揭示了病毒感染在人类癌症发生中的重要作用。据估计在世界范围内15%~20%人类癌症为感染病毒所引起。尽管病毒导致人类癌症的发生机制各不完全相同, 但病毒编码的癌蛋白均干扰细胞的特定信号通路, 有利于其复制或致病。近年来病毒导致细胞表观遗传改变受到广泛关注, 已成为研究热点。其主要机制有: (1) 病毒致癌蛋白诱导细胞DNA甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 及组蛋白修饰酶, 如组蛋白脱乙酰基酶 (histone deacetylase, HDAC)、组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT)、组蛋白甲基转移酶和脱甲基转移酶的表达, 并与之相互作用改变其活性^[1-3]; (2) 病毒致癌蛋白也可以改变染色质构像以及miRNA加工相关蛋白的活性^[4-5]; (3) 病毒基因可以整合至宿主DNA上, 激活宿主防御机制, 许多抑癌基因

DNA甲基化后失活^[6]。下面重点介绍DNA病毒致癌蛋白与宿主表观遗传机制之间的相互作用以及这种相互作用对宿主细胞状态和病毒生命周期的影响。各种病毒的表观遗传机制见表1。

1 人乳头瘤病毒的表观遗传机制

表观遗传学的改变和人乳头瘤病毒 (HPV) 感染与宫颈癌的发生密切相关。HPV DNA甲基化常存在于宫颈癌细胞、临床标本和培养的细胞中。HPV DNA初始甲基化可能是宿主沉默病毒复制转录的防御机制, 也有可能是病毒保持持续感染的一种策略。HPV基因组不编码任何已知DNA甲基化相关蛋白, 因此病毒基因组和宿主基因组是被宿主细胞DNMT甲基化的^[7]。HPV基因组甲基化模式因病毒所处生命周期阶段、疾病状态或是病毒类型的不同而不同^[8]。HPV DNA高度甲基化发现于HPV基因组的长控制区域 (long control region, LCR) 和L1区域^[9]。在部分HPV16引起的原发性宫颈癌中, 发现HPV16的LCR高度甲基化, 特别是在E2结合位点 (E2 binding site, E2BS) ^[10]。体外已证实E2BS序列DNA甲基化抑制了E2蛋白与E2BS的结合, 随后激活E6和E7表达。DNA去甲基化药物可以诱导并招募E2蛋白至HPV上游调节区结合位点并减少E6和E7的表达。在一些HPV18引

收稿日期: 2015-06-18; 修回日期: 2015-08-25

基金项目: 湖北省自然科学基金面上项目 (2014CFB372)

作者单位: 430065 武汉, 湖北中医药大学检验学院

通信作者: 郝娟, E-mail: xijuan_78love@126.com; 谢圣高, E-mail: xiesg100@163.com

作者简介: 胡玉倩 (1990-), 女, 硕士在读, 主要从事肿瘤分子生物学研究

表1 各种病毒的表现遗传机制

Table1 Epigenetic interactions of all kinds of virus

Virus	Epigenetic interaction
HPV	1. HPV16 LCR region was methylated to increase E6 and E7 expression. 2. In the cases of HPV16 and HPV18, L1 sequence had different methylation pattern. 3. Host tumor suppressor genes was inactive because of methylation. 4. HPV viral proteins interacted with cellular proteins which were components of epigenetic machinery.
EBV	1. EBV genome increased methylation to regulate viral protein expression, like EBNA1. 2. LMP1 activated DNMTs and upregulated KDM6B; EBNA2 interacted with p300 and activated transcription; EBNA3c binded HDNCs. 3. Histone modifications modulated viral protein like LMP2A, BZLF1 expression.
KSHV	1. LANA activated DNMT3a and interacted with TGF- β II, SUV39H1, MeCP2, and mSin3. 2. LANA, RTA, K-bZip, and viral homologue of interferon regulatory factor encoded by ORFK9 interacted with p300/CBP and reduced its activity.
HBV	HBx activated DNMT1; HBx regulated the expression of DNMT3a and DNMT3b; HBx interacted with p300/CBP; HBx interacted with HDAC.

起的原发细胞癌和转染了全长HPV18基因的原代人包皮角质形成永久传代细胞中，HPV18的LCR被甲基化。但在C41和HeLa细胞系中没有发现此现象，且DNA去甲基化药物处理后没有导致E6和E7表达减少。这表明高危型的HPV16和HPV18之间的表现遗传机制存在差异。

高危型HPV16或HPV18所致癌症、癌前病变、无症状携带者中发现了不同的L1序列甲基化模式。在无症状感染者中，HPV16 L1序列处于中间甲基化状态；在癌前病变患者中，其处于低甲基化状态；在癌症患者中，处于高甲基化状态。上述结果提示L1 DNA甲基化可能是HPV18和HPV16相关疾病临床进展的理想分子标记。

肿瘤患者基因组也可能发生DNA甲基化模式的改变。在宫颈癌细胞中，一些基因启动子区含有CpG岛的肿瘤抑制基因常出现高度甲基化后引起抑癌基因失活^[8,11]。基因表现遗传沉默可发生于细胞周期调控、凋亡、DNA修复、发育分化、荷尔蒙反应、侵袭和转移。但宫颈癌细胞肿瘤抑制基因的甲基化是否由HPV病毒引起并导致癌症发生尚不清楚^[8]。

虽然无证据表明HPV诱导肿瘤抑制基因的甲基化，但已证实HPV病毒蛋白可与细胞表现遗传机制蛋白相互作用。例如，HPV16 E7和DNA甲基转移酶1（DNA methyltransferase1, DNMT1）结合，激活其酶活性及其转录^[8]。E6、E7蛋白和组蛋白修饰酶相互作用。E6结合并抑制HAT蛋白、核蛋白p300和CBP活性。在体外，E7癌蛋白和pCAF组蛋白乙酰基转移酶相互作用，以降低乙酰基转移酶的活性。E7同样可以和HDACs相互作用，使处于分化状态的细胞E2F2蛋白转录增加，进而影响细胞S期进

展。HPV16 E7可导致RB蛋白被HDAC蛋白替换，致使人包皮角质化细胞中E2F靶启动区H3组蛋白乙酰化作用增加。最近许多研究证实人乳头瘤病毒E7癌蛋白可诱导KDM6A和KDM6B组蛋白脱甲基酶表达，导致HPV16阳性的宫颈损伤中H3K27me3的表达下降^[3]。E7癌蛋白所介导的KDM6B表达上调和宫颈癌生物标志物p16INK4A的表达增加相关。同时，KDM6A或KDM6B表达上调可导致其调节的HOX基因高水平表达。因此，推测HPV16 E7表达致使宿主细胞在组蛋白水平上发生表现遗传重组。HPV16 E7蛋白也可在宫颈癌细胞中诱导EZH2组蛋白甲基转移酶的表达，然而，组蛋白修饰改变模式尚不清楚^[12]。EZH2过度表达使组蛋白甲基化酶复合体PRC4的形成增多，随后导致组蛋白H1K26脱乙酰基化并甲基化。因此，E7表达细胞中EZH2表达增加可能增加H1K26甲基化。

2 Epstein-Barr病毒的表现遗传机制

EBV属于人类 γ -疱疹病毒，是最常见病毒之一，和一些癌症，如伯基特氏淋巴瘤（burkitt lymphocytoma, BL）^[13]、鼻咽癌（nasopharyngeal carcinoma, NPC）、NK/T细胞淋巴瘤以及胃癌密切相关^[14]。EBV病毒感染还与一些免疫缺陷患者，如AIDS和移植后患者的淋巴和上皮恶性肿瘤相关。

EBV感染有溶解期和休眠期两个阶段。在溶解期时，病毒复制后被感染细胞中释放出来而病毒基因组仍旧在宿主细胞染色体中。在休眠期，病毒颗粒不再复制，表达出一些可导致癌症发生的病毒蛋白，被称作“休眠蛋白”。EBV的DNA甲基化和组蛋白修饰控制着休眠期病毒癌蛋

白和miRNAs的表达^[15]。EBV基因组的甲基化有利于病毒躲避宿主免疫系统,抑制病毒休眠期蛋白的表达,逃避细胞毒性T细胞的识别。EBV基因组甲基化模式因EBV潜伏期阶段(0、I、II、III)和肿瘤类型的不同而不同。从无症状感染到最终形成肿瘤阶段,EBV基因组DNA甲基化水平显著升高并且调控病毒基因的表达。EB病毒核抗原(EBV-determined nuclear antigen 1, EBNA1)的表达是受表观遗传调节的EBV基因之一,EBNA1蛋白在病毒复制和休眠期对病毒游离基因的维持起着重要作用。EBNA1的表达受四个启动子调控:Cp、Wp、Qp和Fp。这些启动子甲基化后调节EBNA1的表达并最终决定潜伏期的类型。在BL、霍奇金病(hodgkins disease, HD)和NPC中EBV病毒I、II期潜伏阶段,已发现Wp、Cp和X启动子可甲基化。有趣的是,Qp启动子维持非甲基化。这说明了它可能被一个抑制甲基化蛋白所调节并且进行了特定的组蛋白修饰^[16]。

在控制细胞周期、凋亡、增殖的过程中,许多肿瘤抑制基因的表达可能会因EBV病毒蛋白引起的DNA甲基化而表达下调。EBV病毒的潜伏膜蛋白1(LMP1)可引起DNMT1的活化,导致鼻咽癌细胞肿瘤抑制基因启动区的甲基化增多^[17]。LMP1还可通过活化DNA甲基转移酶DNMT1 3A和3B,诱导E-cadherin启动子区高度甲基化并使得E-cadherin表达下调。除了E-cadherin启动区,其他肿瘤抑制基因启动区如RASSF1、视黄酸受体、 $\beta 2$ 、p16^{INK4}和p13同样也会在NPC细胞中高度甲基化^[18]。胃癌细胞中LMP2A蛋白参与DNMT1的活化并导致PTEN基因的表达下调^[19]。病毒Zta蛋白也可能影响宿主基因的表达,下调早期生长反应蛋白1。

EBV癌蛋白也可能和组蛋白修饰相关蛋白相互作用。EBV病毒拥有改变组蛋白修饰和染色质结构的能力。EBNA2和3c分别通过和p300/CBP复合物和(或)HDAC相互作用而改变组蛋白乙酰化。最新报道证实LMP1和HPV16的E7癌蛋白相似,在霍奇金淋巴瘤中上调KDM6B脱甲基酶(特异性作用H3K27me3)。LMP1诱导的KDM6B异常表达可能导致霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma, HL)的发病。同时H3K27me3标志分布的改变与早期病毒启动子DNA甲基化的动态变化相互关联,有可能在潜伏期/溶解期的转化中起着重要作用^[20]。组蛋白修饰在EBV启动子活性和病毒蛋白的表达中起着重要作用^[16]。组蛋白H3赖氨酸第4位赖氨酸的双甲基化(H3K4me2)与Qp启动子活性

相关并且调节LMP2A的表达。组蛋白H3和H4的乙酰基化和Qp、Cp启动子活性以及BZLF1和LMP2A表达相关。

3 卡波西肉瘤相关疱疹病毒的表现遗传机制

卡波西肉瘤相关疱疹病毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)也被称为人类疱疹病毒8,和EBV一样属于疱疹病毒属。KSHV和卡波西肉瘤、主要渗出性淋巴瘤(primary exudative lymphoma, PEL)和Castleman's患者中的癌症相关。在KSHV感染中,病毒依赖RTA启动子的甲基化来维持潜伏周期,病毒编码的主要潜伏期蛋白LANA(潜伏期相关核蛋白)也通过和ORF50启动子相互作用或是和与ORF50相互作用的细胞因子结合来维持着潜伏周期^[21]。KSHV可能影响宿主DNA甲基化。LANA蛋白被证实和DNA甲基转移酶DNMT3a相互作用,导致将近80种细胞基因抑制。LANA与DNMT3a的相互作用并使其重新定位,并对H-cadherin基因启动子产生影响。也有报道称LANA和TGF- β II型受体(T β R II)启动子相互作用并诱导其甲基化^[22]。KSHV癌蛋白也和其他表观遗传成分相互作用。LANA蛋白和DNA甲基结合蛋白MeCP2、mSin3转录抑制复合物以及组蛋白甲基转移酶SUV39H1相互作用,在许多表观遗传基因调节中发挥了作用。LANA、RTA、K-bZip蛋白和ORFK9编码的病毒系干扰素调节因子和组蛋白乙酰基转移酶复合物p300/CBP相互作用并导致它的活性降低^[21]。

4 乙肝病毒的表现遗传机制

乙肝病毒(HBV)是黄病毒属成员之一。HBV和丙肝病毒(HCV)是全世界范围内导致肝细胞癌(HCC)发生的主要因素^[23]。HBV基因组甲基化在肝癌临床标本以及培养的癌细胞系中很常见。C和S基因DNA甲基化的存在和其表达缺乏相关。HBx癌蛋白在肿瘤发生中起着重要的作用,同时也是致使病毒和宿主基因表观遗传改变的关键因素^[24-25]。HBx蛋白和DNMT1相互作用并影响其表达。HBx诱导的DNMT1表达增加抑制肿瘤抑制因子如p16和E-cadherin的表达^[24]。HBx能直接和DNMT3a和DNMT3b相互作用并调节其表达,DNMT3a和DNMT3b影响宿主基因的表达^[25]。HBx用相同机制控制病毒基因甲基化模式^[24-25]。HBx也被证实和组蛋白修饰成分如CBP/p300HAT和HDAC有联系,因此影响基因的表达^[25-26]。

5 总结和展望

病毒癌蛋白作用细胞表观遗传物质, 改变他们的表达和(或)活性, 因而导致宿主细胞表观遗传状态的改变。病毒编码的癌蛋白利用具体的表观遗传机制来迫使正常静止的细胞复制, 同时调节感染期病毒基因的表达。病毒启动子DNA甲基化调节病毒基因的表达, 许多致癌病毒都利用这一机制来躲避宿主免疫系统的识别。DNA甲基化的表观遗传改变和组蛋白修饰, 导致许多基因异常表达, 是肿瘤相关病毒高度保守的功能。因此, 从表观遗传的视角研究病毒和宿主之间的相互作用, 对于理解病毒致癌机制和设计抗病毒药物具有重要意义。

参考文献:

- [1] D'Costa ZJ, Jolly C, Androphy EJ, *et al.* Transcriptional repression of E-cadherin by human papillomavirus type 16 E6[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48954.
- [2] Gorres KL, Daigle D, Mohanram S, *et al.* Activation and repression of Epstein-Barr Virus and Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus lytic cycles by short- and medium-chain fatty acids[J]. *J Virol*, 2014, 88(14): 8028-44.
- [3] McLaughlin-Drubin ME, Crum CP, Münger K. Human papillomavirus E7 oncoprotein induces KDM6A and KDM6B histone demethylase expression and causes epigenetic reprogramming[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(5): 2130-5.
- [4] Zhang X, Hou J, Lu M. Regulation of hepatitis B virus replication by epigenetic mechanisms and microRNAs[J]. *Front Genet*, 2013, 4: 202.
- [5] Boosani CS, Agrawal DK. Methylation and microRNA-mediated epigenetic regulation of SOCS3[J]. *Mol Biol Rep*, 2015, 42(4): 853-72.
- [6] Tarocchi M, Polvani S, Marroncini G, *et al.* Molecular mechanism of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(33): 11630-40.
- [7] Fernandez AF, Esteller M. Viral epigenomes in human tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2010, 29(10): 1405-20.
- [8] Clarke MA, Wentzensen N, Mirabello L, *et al.* Human papillomavirus DNA methylation as a potential biomarker for cervical cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2012, 21(12): 2125-37.
- [9] Fang J, Zhang H, Jin S. Epigenetics and cervical cancer: from pathogenesis to therapy[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(6): 5083-93.
- [10] Trietsch MD, Nooij LS, Gaarenstroom KN, *et al.* Genetic and epigenetic changes in vulvar squamous cell carcinoma and its precursor lesions: a review of the current literature[J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 136(1): 143-57.
- [11] Yang HJ. Aberrant DNA methylation in cervical carcinogenesis[J]. *Chin J Cancer*, 2013, 32(1): 42-8.
- [12] McLaughlin-Drubin ME, Crum CP, Münger K. Human papillomavirus E7 oncoprotein induces KDM6A and KDM6B histone demethylase expression and causes epigenetic reprogramming[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(5): 2130-5.
- [13] Pannone G, Zamparese R, Pace M, *et al.* The role of EBV in the pathogenesis of Burkitt's Lymphoma: an Italian hospital based survey[J]. *Infect Agent Cancer*, 2014, 9(1): 34.
- [14] Yip TT, Ngan RK, Fong AH, *et al.* Application of circulating plasma/serum EBV DNA in the clinical management of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oral Oncol*, 2014, 50(6): 527-38.
- [15] Niller HH, Tarnai Z, Decsi G, *et al.* Role of epigenetics in EBV regulation and pathogenesis[J]. *Future Microbiol*, 2014, 9(6): 747-56.
- [16] Kim do N, Song YJ, Lee SK. The role of promoter methylation in Epstein-Barr virus (EBV) microRNA expression in EBV-infected B cell lines[J]. *Exp Mol Med*, 2011, 43(7): 401-10.
- [17] Lee H, Seo SY, Tiwari I, *et al.* Epstein-Barr Virus latent membrane protein 1 overcomes all-trans retinoic acid-induced apoptosis by inhibiting retinoic acid receptor-β60 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 423(2): 313-8.
- [18] Tempera I, Lieberman PM. Epigenetic regulation of EBV persistence and oncogenesis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 26: 22-9.
- [19] Zhao C, Bu X. Promoter methylation of tumor-related genes in gastric carcinogenesis[J]. *Histol Histopathol*, 2012, 27(10): 1271-82.
- [20] Anderton JA, Bose S, Vockerodt M, *et al.* The H3K27me3 demethylase, KDM6B, is induced by Epstein-Barr virus and over-expressed in Hodgkin's Lymphoma[J]. *Oncogene*, 2011, 30(17): 2037-43.
- [21] Chen HS, Lu F, Lieberman PM. Epigenetic regulation of EBV and KSHV latency[J]. *Curr Opin Virol*, 2013, 3(3): 251-9.
- [22] Campbell M, Kung HJ, Izumiya Y. Long non-coding RNA and epigenetic gene regulation of KSHV[J]. *Viruses*, 2014, 6(11): 4165-77.
- [23] Zhang YQ, Guo JS. Antiviral therapies for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(13): 3860-6.
- [24] Zhu R, Zhang JS, Zhu YZ, *et al.* HBx-induced androgen receptor expression in HBV-associated hepatocarcinoma is independent of the methylation status of its promoter[J]. *Histol Histopathol*, 2011, 26(1): 23-35.
- [25] Xirong L, Rui L, Xiaoli Y, *et al.* Hepatitis B virus can be inhibited by DNA methyltransferase 3a via specific zinc-finger-induced methylation of the X promoter[J]. *Biochemistry(Mosc)*, 2014, 79(2): 111-23.
- [26] Rongrui L, Na H, Zongfang L, *et al.* Epigenetic mechanism involved in the HBV/HCV-related hepatocellular carcinoma tumorigenesis[J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(11): 1715-25.

[编辑: 刘红武; 校对: 尤婷婷]