

MicroRNA 与 HCMV 先天性感染

郭丽丽

(同济大学附属第一妇婴保健院, 上海 200040)

【摘要】 MicroRNA(miRNAs)的发现使人们对基因表达的调节机制有了更加全面的理解,它是一种全新的调节方式。在中国人类巨细胞病毒(Human Cytomegalovirus, HCMV)感染仍然是一个严重的、未能解决的问题。根据美国的研究结果进行推断,我国以每年2000万新生儿的出生基数来计算,有明显HCMV感染症状的婴儿可能高达4万例。HCMV主要通过胎盘直接传给胎儿,使其在胎儿期直接感染。最新研究表明,机体感染HCMV后,HCMV通过改变细胞的表达和调控,从而参与HCMV感染机体的病理生理过程。其中,HCMV感染后,机体MicroRNA的表达异常成为HCMV发病机制研究中的重要突破口,成为近年来研究的热点之一。本文综述了近年来MicroRNA在HCMV先天性感染中的研究进展,以及MicroRNA在HCMV垂直传播中表达的展望。

【关键词】 MicroRNA; 人类巨细胞病毒; 先天性感染

1 MicroRNAs

MicroRNA(miRNAs)是一种小分子量的非蛋白编码RNAs。它特异性地和mRNA通过碱基配对的方式结合并且导致翻译水平的抑制作用或者通过剪切mRNA从而使相应的mRNA表达下调^[1]。MiRNAs原始转录产物是较长的序列。MicroRNA(miRNAs)是长为18~25个核苷酸序列的内源性非编码RNAs^[2]。

成为成熟的miRNAs要经历3个RNA加工的过程^[3]。在整个过程中,无论动物还是植物,都需要相关的酶和附属元件的参与。第一步, RNA聚合酶II转录miRNA基因,产生原始miRNAs(primiRNAs);第二步,核糖核酸酶III核酸内切酶Drosha,以及它的伴侣DGCR8,切割原始miRNA产生miRNAs前体(pre-miRNAs),它具有发卡结构,分子量60~75nt。前两步在细胞核内进行,最后一步加工过程则在胞浆内进行。首先由Exportin 5将前体miRNAs从细胞核转运到胞浆内,再由核糖核酸酶III将前体miRNAs加工产生成熟的miRNA双链。成熟的miRNAs与效应分子复合体或RNA介导的沉默复合体(RISC)结合,在动植物中产生转录

后基因表达的负调控作用。这种负调控作用是通过和特异性的mRNA序列结合,切割其序列中特异性的位点,或者通过AGO家族的翻译阻遏蛋白,也可以通过以上两种机制共同作用来实现。MiRNAs在多个生物和病理过程中起作用,包括细胞增殖、分化、凋亡、致癌作用和心血管疾病等等^[3]。

2 HCMV先天性感染与母婴垂直传播

人类巨细胞病毒(Human Cytomegalovirus, HCMV)属于疱疹病毒科,具有潜伏及活化的生物学特性。HCMV侵入人体内将长期或终身存在,在人群中大多为潜伏性感染。潜伏的病毒可被激活为活动性感染,即病毒在宿主体内完成复制并扩散。Vetzlng的研究表明潜伏性感染时HCMV-DNA阳性,而mRNA阴性;活动性感染时HCMV-mRNA阳性。因mRNA为病毒转录的产物,是复制活跃的标志,故mRNA表达与活动性感染密切相关。血清IgM抗体的出现表明病毒近期感染。目前认为,血清IgM抗体及mRNA阳性均为HCMV活动性感染的标志。临床指导HCMV感染孕妇对胎儿的取舍应非常慎重,故目前将HCMV-DNA检测与mRNA及血清IgM的结合检测作为对妊娠HCMV感

染与垂直传播的评价手段。IgM 抗体不能通过胎盘,从脐带或新生儿期的血清中查到 IgM 抗体,即提示胎儿感染。新生儿出生后 1 周内唾液中或尿液中存在 HCMV-DNA 也是先天性 HCMV 感染的标志之一。

HCMV 可引起婴儿肝病综合征,并可能引起胆道闭锁。从世界范围看,目前仍缺乏系统的有关 HCMV 先天感染的流行病学资料。美国 1990 年的研究表明,美国每年有 400 万婴儿出生,其中 4 万名(1%)存在 HCMV 感染,93% 为无症状感染,仅有 7% 的婴儿出现 HCMV 感染的明显症状。总的来看,有严重后果或出现后遗症的 CMV 感染婴儿约占全部出生婴儿的 0.2% (8 140 例)。根据美国的研究结果进行推断,中国以每年 2 000 万新生儿的出生基数来计算,有明显 HCMV 感染症状的婴儿可能高达 4 万例。HCMV 可通过胎盘直接传给胎儿,使其在胎儿期直接感染,亦可通过母乳喂养的方式进行出生后的母婴传播。过去认为 HCMV 只能通过上皮细胞进行传播,而最近研究显示,HCMV 可感染多种类型的细胞,包括血液中的各种细胞、血管内皮细胞和不同器官组织的细胞。HCMV 可存在于胎盘组织内的包括内皮细胞、巨噬细胞、成纤维细胞及平滑肌细胞等各种细胞中(图 1),HCMV 可通过直接感染胎盘滋养层细胞和结缔组织细胞进入胎儿血液,亦可通过被感染孕母的血细胞进入胎儿血液,HCMV 亦可通过胎盘(图 2, 3)。另外,HCMV 可通过唾液、乳汁、尿液和生殖道分泌物进行传播,导致的疾病有视网膜炎、肺炎、肝炎、胃肠炎和先天 HCMV 感染综合征等。

在中国,HCMV 感染仍然是一个严重的问题。国内报道的先天性感染率为 33% ~ 46%,其中城市孕妇 HCMV 感染率 5.42%,高于发达国家报道的 0.74% ~ 4%。孕妇 HCMV 活动性感染组垂直传播率明显高于非活动性感染组,活动性感染发生垂直传播的概率是非活动性感染的 19 倍,因此 HCMV 活动性感染与母婴垂直传播密切相关。孕妇 HCMV 初次感染能通过胎盘垂直传播给胎儿,导致先天性感染,有胎儿畸形、黄疸、肝脾大及神经系统损害;二次感染很少引起新生儿的症状性感染。通

过产道或乳汁传播的围产期感染常无症状或症状较轻。先天性感染婴儿若在出生后治疗,则难以恢复,较围生期感染预后差。

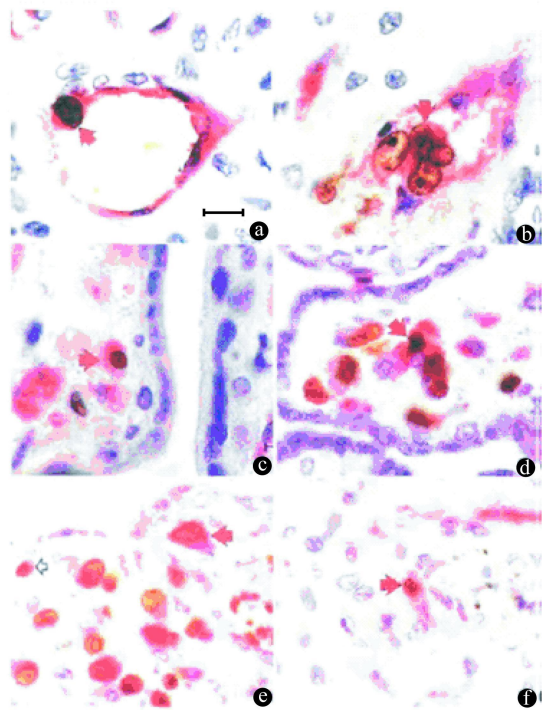
3 MicroRNA 与 HCMV 感染

最新研究表明,机体感染 HCMV 后,HCMV 通过改变细胞的表达和调控,从而参与 HCMV 感染机体的病理生理过程^[4]。感染后,HCMV 通过各种机制改变许多细胞过程,其中机体 MicroRNA 的表达异常成为 HCMV 发病机制中的重要研究突破口,成为近年来研究的热点之一。

人类基因组编码的超过 500 多种的 microRNA (miRNA)、小 RNA (19~26 个核苷酸)调节细胞不同的基因的表达。miRNA 与病毒家族有密切的联系^[5],目前已知的有 Simian 病毒 40、人类免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)、单纯疱疹病毒 1 型、马莱克(氏)病毒、鼠巨细胞病毒、人类巨细胞病毒(HCMV)、Epstein Barr 病毒及人类疱疹病毒 8 型编码 miRNA(3、12、18、40、42、44、48、53)。HCMV 在感染细胞的急性期及超急性期表达至少 12 种 miRNA。miRNA(12、18、41)的表达在感染后 72 小时迅速增加。

miRNA 表达的改变对于 HCMV 具有重大意义。目前已经明确 HCMV-miR UL112 可以通过下调组织相容性复合体 I 链相关分子 B 蛋白表达水平,从而抑制宿主 NK 细胞的免疫杀伤作用。病毒 miRNA 40 通过下调一些病毒源性的蛋白产物,从而干扰宿主免疫系统对感染细胞的免疫识别,发挥免疫逃避作用^[6]。

此外,病毒编码的 miRNA 可以干扰宿主自身编码的 miRNA 的调节作用。宿主的 miRNAs 前体在细胞核内可能受到病毒 miRNA 的抑制。HCMV 编码的 miRNA 通过不同的方式干扰宿主细胞代谢,包括改变细胞内转录、干扰细胞周期以及抑制感染诱发的凋亡等等。在 HCMV 感染细胞内存在生物合成病毒 miRNA 所需的所有元件。虽然感染 HCMV 后,大多数 miRNA 变化不明显,但数种 miRNA 发生了显著上调或者下调,直接或间接导致病毒复制。



CMV感染组织的各种细胞

图 1 HCMV 感染组织细胞的免疫组化图示



图 2 HCMV 通过胎盘感染胎儿的病理表现

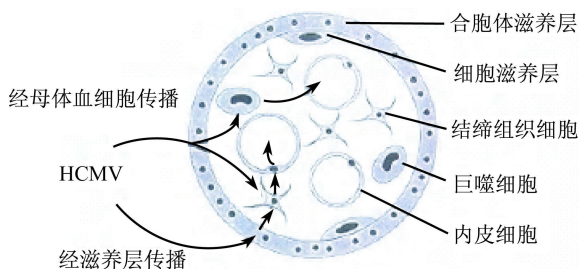


图 3 HCMV 通过胎盘感染胎儿的机制示意图

注: 以上图示引自 Gerhard Jah, 朱启睿、徐锦所著《人类巨细胞病毒感染的母婴传播、诊断与治疗》, 刊载于《Chin J Evid Based Pediatr》2008 年第 3 卷第 1 期。

目前已经证实, 很多 miRNA 具有相似的序列, 提示它们可能协同调控相同的靶点。其中, miR-100 及 miR-101 具有协同下调编码哺乳动物雷帕霉

素作用位点复合物 3' 非翻译区, 即干扰 mTOR (the mammalian target of rapamycin) 通路的作用^[4]。这对于 HCMV 的复制极为重要。miR-100 及 miR-101 类似物单独拮抗 HCMV 复制的作用非常有限, 而两者协同拮抗的作用可以提升 33 倍之多。通过选择性调节宿主细胞 miRNA 的表达这种方式, HCMV 达到促进自身复制的作用。

4 MicroRNAs 与蛋白组学

动物 microRNAs (miRNAs) 通过抑制翻译和 (或) 介导目的信使 RNA 的降解从而调控基因的表达^[7]。目前尚不清楚在全基因谱上, miRNAs 是如何在翻译水平起作用的。目前可以使用蛋白组学方法 (proteomic approach) 来定量由 miRNAs 转染或内源性 miRNAs 基因敲除后介导的数千种蛋白的合成变化。与此同时, 还可以通过微阵列的方法定量 mRNA 表达水平^[8]。

研究证明了单个 miRNA 能抑制数百种蛋白产物的表达。然而这种抑制作用是非常轻微的。一系列已知的 miRNA 结合位点, 如种子序列 (seed sequence) 同样也有抑制人类蛋白的合成特征。除了下调 mRNA 的表达水平外, miRNA 同时可以直接抑制数百种蛋白的翻译过程。已有研究证实 miRNA 能够直接或间接地影响数千种基因编码的蛋白合成。

5 MicroRNA 在 HCMV 垂直传播中的表达

目前, 尚无关于 HCMV 通过垂直传播感染胎体后 MicroRNA 水平调控基因表达的文献报道。基于以上认识, 进一步的研究可以探讨 HCMV 通过垂直传播感染胎体后, 如何在 MicroRNA 水平调控基因表达, 从而明确 HCMV 在垂直传播过程中, 是否存在巨细胞病毒感染导致的 MicroRNA 表达变化, 感染细胞表达的 MicroRNAs 与人类巨细胞病毒自身复制的调节过程。并试图寻找 HCMV 感染后高表达的 miRNAs 所调节的目标基因, 最终从基因水平探讨 HCMV 的致病机制。

参考文献

[1] Kandiah Jeyaseelan, Kai Ying Lim, Arunmozhiaras. Ar

- mugam. MicroRNA Expression in the Blood and Brain of Rats Subjected to Transient Focal Ischemia by Middle Cerebral Artery Occlusion[J]. Stroke, 2008, 39: 959.
- [2] Fu Zhang Wang, Frank Weber, Carlo Croce, et al. Human Cytomegalovirus Infection Alters the Expression of Cellular MicroRNA Species That Affect Its Replication[J]. J Virol, 2008, 82(18): 9065-9074.
- [3] Bartel DP. MicroRNA: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116: 281-297.
- [4] Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease[J]. Dev Cell, 2006, 11: 441-450.
- [5] Hernando E. MicroRNAs and cancer: role in tumorigenesis, patient classification and therapy [J]. Clin Transl Oncol, 2007, 9: 155-160.
- [6] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6: 857-866.
- [7] Kosik KS. The neuronal microRNA system [J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7: 911-920.
- [8] Selbach M, Schwanh usser B, Thierfelder N, et al. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs [J]. Nature, 2008, 455(7209): 58-63.

编辑: 郑枫芸

收稿日期: 2009 11 26

读者 • 作者 • 编者

国外有影响力的母胎医学类学术期刊一览

Abbreviated Journal Title	ISSN	Impact 06	Impact 07
HUM REPROD UPDATE	1355 4786	6. 793	7. 257
OBSTET GYNECOL	0029 7844	3. 813	4. 282
MENOPAUSE	1072 3714	3. 17	3. 672
HUM REPROD	0268 1161	3. 769	3. 543
PLACENTA	0143 4004	2. 969	3. 238
FERTIL STERIL	0015 0282	3. 277	3. 168
AM J OBSTET GYNECOL	0002 9378	2. 805	2. 917
REPROD BIOMED ONLINE	1472 6483	3. 206	2. 84
SEM IN REPROD MED	1526 8004	3	2. 73
ULTRASOUND OBST GYN	0960 7692	2. 288	2. 672
BJOG-INT J OBSTET GY	1470 0328	2. 126	2. 666

(续表 1 见第 28 页)