

## EBV裂解基因在肿瘤发生、发展中的作用

邓溢章, 钟 茜

(中山大学肿瘤防治中心华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广州 510060)



钟茜, 中山大学肿瘤防治中心教授, 博士生导师, 广东省“特支计划”科技创新青年拔尖人才, 现任中国研究型医院学会病毒肿瘤学专委会常委及青年委员会副主委, 广东省抗癌学会肿瘤转移专业委员会常委及青年委员会主任委员。承担科技创新2030—重大项目课题、科技部“863青年科学家”课题, 主持多项国家自然科学基金项目等, 在 *Cell host & microbe*、*Cell research*、*The lancet digital health*、*Nature communications*、*Advanced science*、*EBioMedicine*、*Genome medicine*、*Journal for immunotherapy of cancer*、*Clinical cancer research*、《癌症》等国内外高质量学术期刊发表论文33篇。荣获2022年度教育部高等学校科学研究优秀成果奖自然科学奖一等奖、2023年度广东省自然科学奖一等奖。目前重点着眼于EB病毒(EBV)的相关肿瘤, 如鼻咽癌, EBV相关胃癌等研究, 从肿瘤病毒、肿瘤免疫、肿瘤疫苗等多个方向探讨病毒致癌机制和肿瘤发病机制, 寻找诊疗新方法和干预新策略。

**摘要** EB病毒(EBV)是人类第一种肿瘤病毒, 是多种上皮和淋巴源性癌症的致病因子。EBV的生命周期包括潜伏期和裂解期两个阶段。裂解周期是新病毒颗粒产生的阶段, 而潜伏周期则是一种持续感染的状态, 不会产生有效的病毒复制。目前的观点认为, 潜伏期基因是EBV相关癌症发病机制的关键驱动因素, 而裂解期基因主要负责病毒传播。然而, 近年来的证据表明, EBV的裂解阶段在EBV肿瘤发生中也发挥着重要作用, 研究人员也在肿瘤组织和细胞系中检测到裂解基因的表达。本文将概述EBV裂解基因在肿瘤发生过程的促进作用, 并讨论了未来可能的研究方向。

**关键词** EB病毒; 肿瘤; 裂解基因

中图分类号: R973 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2024)09-1252-09

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.09.004

### The role of EBV lytic genes in tumor development and progression

DENG Yizhang, ZHONG Qian. (State Key Laboratory of Oncology in South China, Sun Yat-sen University Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

**Abstract** Epstein-Barr virus (EBV), the first human oncolytic virus, is the causative agent of several cancers of epithelial and lymphoid origin. The life cycle of EBV consists of two phases, the latent and lytic phases. The lytic cycle is the phase in which new virus particles are produced, whereas the latent cycle is a state of persistent infection that does not result in efficient viral replication. The current view is that latent-phase genes are key drivers of the pathogenesis of EBV-associated cancers, whereas lytic genes are primarily responsible for viral transmission. However, recent evidence suggests that the lytic phase of EBV also plays an important role in EBV tumorigenesis, and researchers have detected the expression of lytic genes in tumor tissues and cell lines. This paper will outline the contributory role of EBV lytic genes in tumorigenesis and discuss possible future research directions.

**Keywords** Epstein-Barr virus; tumor; lytic genes

[通信作者] 钟茜, E-mail: zhongqian@sysucc.org.cn

[收稿日期] 2024-08-11

EB病毒(EBV)是一种大型双链DNA病毒,属于人类疱疹病毒家族。该病毒最初由安东尼·爱泼斯坦爵士(Sir Anthony Epstein)及其同事于1964年在伯基特淋巴瘤中发现,其在人群中广泛传播,超过95%的成人持续感染。EBV也是被发现的第一种人类肿瘤病毒<sup>[1]</sup>。EBV感染可引起许多人类癌症,包括恶性淋巴瘤和上皮癌,如鼻咽癌(NPC)、原发性肺淋巴上皮瘤样癌(PLELC)、EBV相关肝内胆管癌和EBV相关胃癌(EBVaGC)<sup>[1]</sup>。

EBV主要通过唾液进行传播。EBV通过唾液穿过黏膜上皮后,感染如扁桃体等次级淋巴组织中的B细胞,导致Epstein-Barr核抗原2(EBNA2)依赖性的B细胞增殖。感染的B细胞可以直接分化为记忆B细胞,EBV病毒以环状染色体形式存在于细胞核中,并且无病毒蛋白表达(潜伏期0)。EBV病毒也可以表达部分潜伏期蛋白如EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3C、EBNA-LP、LMP1和LMP2进入潜伏期Ⅲ,驱动被感染的幼稚B细胞分化为生发中心B细胞(潜伏期蛋白EBNA1、LMP1和LMP2在这些B细胞中表达),最后分化为记忆B细胞,建立持久且抗原沉默的潜伏感染<sup>[2]</sup>。在某些条件下,EBV能够被激活并进入裂解复制期,导致EBV病毒颗粒的释放,并从基底侧感染上皮细胞,以便有效地释放到唾液中并传播病毒。而这种上皮细胞的感染会导致EBV相关的癌症,如NPC<sup>[3]</sup>。

EBV基因组约为172 kb,编码约100个开放阅读框,这些基因一般分为潜伏基因和裂解基因两类。一潜伏蛋白包括6种核抗原(EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、EBNA3C和EBNA-LP)和3种潜伏膜蛋白(LMPs 1、EBNA2A和EBNA2B)。多年来,这些潜伏蛋白被视为EBV相关癌症发病机制中的关键分子,通过调节多种重要的细胞过程和通路发挥作用<sup>[4]</sup>。尽管有超过80个EBV裂解基因,但大多数裂解基因在肿瘤发生中的潜在作用关注较少。然而,越来越明显的是,EBV的裂解阶段在EBV驱动的癌变中也扮演着重要角色。特别是早期裂解基因*BARF1*在NPC和EBVaGC中被认为持续表达,结果表明,除了传统上与潜伏感染相关的作用外,我们还需要对EBV裂解基因的其他功能进行探索。而这也说明了在EBV相关癌症中获得更全面的EBV基因表达谱的必要性。新一

代测序技术的出现使得与各种癌症相关的外源性病原体的发现和研究成为可能。RNA测序(RNA-seq)捕捉癌细胞的遗传和转录谱,这可以用于检查宿主基因组及感染宿主细胞的病原基因组。近年来,越来越多的研究小组使用RNAseq分析来确定EBV相关癌症的转录组特征<sup>[5]</sup>。这些研究一致发现,EBV裂解基因在肿瘤组织中广泛表达,并且某些基因的表达水平与潜伏基因相似。本文从不同EBV相关肿瘤的活检中通过RNAseq分析持续检测到的早期和晚期裂解基因的表达作为切入点,重点概述了EBV裂解基因可能如何促进肿瘤发生的已知机制。

## 1 EBV裂解周期

与许多能够建立持久感染的病毒一样,EBV从潜伏感染转变为裂解感染会导致病毒复制和新病毒颗粒的产生,最终导致有效感染细胞的裂解。多种刺激物刺激EBV病毒感染的B细胞和上皮细胞可激活EBV裂解周期,例如酯类和组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACs)<sup>[6]</sup>。虽然负责该过程的确切体内条件尚待探索,但这与B细胞和上皮细胞的分化密切相关。裂解周期的特点是大量病毒蛋白的表达,并分为3个时间和功能阶段:即时早期、早期和晚期<sup>[7]</sup>。Zta(由BZLF1编码)和Rta(由BRLF1编码)是即时早期转录因子,负责激活EBV裂解基因表达的级联反应。早期基因主要编码与病毒DNA复制相关的蛋白,而晚期基因产物主要支持病毒颗粒的形成。

Zta和Rta协同刺激多种早期裂解基因的表达,包括编码核心复制机制组成部分的基因:*BALF5*(DNA聚合酶)、*BALF2*(单链DNA结合蛋白同源物)、*BMRF1*(DNA聚合酶过程因子)、*BSLF1*(引发酶同源物)、*BBLF4*(解旋酶同源物)和*BBLF2/3*(可能是解旋引发酶复合物第3组分的同源物)<sup>[8]</sup>。除了作为转激活因子的功能外,Zta还与oriLyt(裂解DNA复制的起始点)结合,以启动EBV DNA复制<sup>[8]</sup>。

传统观点认为,潜伏周期和裂解周期是导致EBV终身感染的两种相互排斥的机制。一组受限制的潜伏基因的表达与持续感染是相容的,因为它

允许病毒逃避宿主免疫。相比之下,病毒复制过程中裂解基因的表达主要存在于口咽和唾液腺的上皮细胞中,被认为会促进新病毒颗粒的传播<sup>[9]</sup>。所有感染 EBV 的宿主都会对 EBV 裂解抗原产生明显的免疫反应,包括体液免疫反应和细胞介导的免疫反应。这表明,裂解性感染是病毒感染的一个持续特征,对免疫系统提供持续的刺激<sup>[10]</sup>。

当病毒基因组未甲基化时,感染后无法实现完整的裂解周期(即产生子病毒),但 Zta 仍能诱导几种早期基因的表达。在缺乏主要编码晚期结构蛋白的裂解基因的情况下,*BZLF1* 与 1 个或多个早期基因的共同表达,最终未能产生子病毒,这被称为“abortive lytic cycle”(中断裂解周期)<sup>[11]</sup>。这种现象可能会导致病毒在宿主细胞中不完全复制,从而可能对宿主的细胞功能产生影响,甚至在某些情况下与肿瘤发生相关联<sup>[12]</sup>。自从提出“abortive lytic cycle”概念以来,裂解基因可能在肿瘤发生中发挥作用的观点逐渐浮现。

## 2 EBV 裂解基因在肿瘤中的表达

在与 EBV 相关的恶性肿瘤(包括 NPC、EBVaGC 和 Burkitt 淋巴瘤(BL))中,潜伏期和中断裂解周期被发现同时存在<sup>[13]</sup>。这些研究一致报告了 *BZLF1/BRLF1* 和一些早期裂解基因的存在,而晚期裂解基因要么检测频率低,要么检测水平低。令人意想不到的是,尽管有证据表明存在中断裂解周期,但通过 RNAseq 分析,在肿瘤样本中发现了一些晚期裂解基因的表达。有一些晚期基因被归类为“漏性”基因,因为它们在裂解期早期的表达水平较低,而在 EBV DNA 复制后表达水平进一步提高<sup>[6]</sup>。然而这些基因的表达通常依赖于 DNA 裂解复制,“漏性”基因并不能用于解释这些晚期裂解基因在肿瘤样本中的存在。目前尚不清楚 EBV 是否存在一种尚未被发现的通路以表达这些晚期基因,进而可能对疾病的发展产生影响。

尽管已有报告显示,在多种 EBV 肿瘤中检测到了裂解蛋白,但只有在 RNAseq 分析出现后,才有可能对 EBV 转录组特征进行全面描述。由于技术和(或)临床方面的挑战,之前的大多数研究都使用了大块肿瘤组织。因此,这种病毒裂解 RNA 的表

达是否来自正在经历裂解周期的 EBV 阳性肿瘤细胞周围的 EBV 阳性 B 细胞仍有待确定。但由于多个独立研究小组在不同的癌症类型中报道了类似的结果,因此可以肯定的是,EBV 相关肿瘤通常表达多种裂解基因,这些基因可能在 EBV 致癌过程中发挥关键作用。本文总结了通过 RNA 测序在不同肿瘤类型中被检测到的 EBV 裂解基因,见表 1。

## 3 EBV 裂解基因在肿瘤中的作用

**3.1 BZLF1** *BZLF1* 基因编码的转录因子是促进 EBV 从潜伏期转换到裂解期的关键因素。当其在潜伏感染的细胞中表达时,会激活整个 EBV 裂解周期级联反应<sup>[14]</sup>。越来越多的证据表明,*BZLF1* 基因表达可能直接或间接地促进 EBV 相关 NPC 的发生和发展。在 NPC 活检样本中发现了 *BZLF1* 在 mRNA 或蛋白水平上的高表达,患者血清中高滴度的抗 BZLF1 IgG 与较差的临床结果相关<sup>[15]</sup>。BZLF1 抗体的检测在早期 NPC 的诊断中具有很高的准确性<sup>[15]</sup>。

由于 *BZLF1* 对甲基化启动子具有亲和性<sup>[16]</sup>,它可以重新激活转录沉默宿主基因,促使细胞获得癌症的标志特征。*BZLF1* 可以通过诱导血管内皮生长因子(VEGF)和白细胞介素(IL)-8 的表达对肿瘤进展产生积极影响,两者都与血管生成、肿瘤发展、转移和化疗耐药有关<sup>[17]</sup>。此外,*BZLF1* 高表达与 NPC 患者晚期淋巴结转移相关,这种现象与 *BZLF1* 直接反式激活基质金属蛋白酶(MMP9)启动子有关<sup>[18]</sup>。*BZLF1* 也可通过其 bZIP 结构域也可以直接与癌症相关的转录因子相互作用,如 p53、RAR、CBP 和 C/EBP $\alpha$ <sup>[19]</sup>。

EBV 在裂解期重新激活时可以观察到的高水平细胞因子、趋化因子和生长因子,包括 IL-8、IL-10、IL-6、IL-13、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )<sup>[20]</sup>。这提示,EBV 裂解期蛋白可以影响肿瘤微环境,逃避或改变免疫反应,从而有利于肿瘤的发展和进展。*BZLF1* 可以通过其两个 ZREs(*BZLF1* 响应元件)直接转激活 IL-8 启动子,导致 NPC 细胞中 IL-8 的上调<sup>[21]</sup>,IL-8 则可以招募巨噬细胞和粒细胞到肿瘤组织微环境中,作为髓系来源抑制细胞的主要来源,抑制抗肿瘤免疫。

**3.2 *BARF1*** *BARF1*是一个早期裂解基因,其表达由即早蛋白 Zebra 和 Rta 激活<sup>[22]</sup>。然而,在潜伏期,这个裂解基因在EBV相关的上皮肿瘤中持续表达,但在EBV相关淋巴瘤中不表达,这使得 *BARF1* 被认为是特异性针对上皮肿瘤的EBV蛋白<sup>[23]</sup>。Seto 等<sup>[24]</sup>研究结果表明,在一些裂解基因如 *BZLF1*、*BMRF1* 和 *BLLF1* 缺失的情况下,93.4%的EBV阳性NPC样本检测到 *BARF1* 的表达。另一项研究也发现 *BARF1* mRNA 在74.4%的NPC患者的鼻咽刷样本中被检测到,以及在69.2%~87.0%的NPC病例中被检测到<sup>[25]</sup>。然而,关于 *BARF1* 蛋白在NPC和GC中的表达的证据很少,其他研究未能在NPC或GC组织中检测到 *BARF1* 蛋白,而这些组织中 *BARF1* mRNA 表达是阳性的<sup>[26]</sup>。因此,进一步研究EBV阳性NPC中 *BARF1* 蛋白的表达是有必要的。

端粒酶通过端粒酶延长端粒是细胞获得无限复制潜力的前提条件,同时也有助于肿瘤的形成<sup>[27]</sup>。在 *BARF1* 转染的上皮细胞中,报道了端粒酶活性的增加,而这导致细胞得以逃避衰老<sup>[27]</sup>。*c-Myc* 是 hTERT 的重要转录调节因子,通过与 TERT 启动子中的结合基序相互作用,*c-Myc* 可以直接增加其表达<sup>[23]</sup>。这一事实表明, *BARF1* 与 *c-Myc* 之间可能存在协同作用,以诱导 hTERT 激活,从而导致上皮细胞的永生。此外,携带 *BARF1* 基因的EBV感染的NPC细胞在裸鼠中诱导了肿瘤生长,而不携带 *BARF1* 的EBV感染细胞则没有<sup>[28]</sup>。值得注意的是,共表达 *BARF1* 和 *H-ras* 的正常鼻咽细胞能够在裸鼠中诱导肿瘤形成,但在仅表达 *BARF1* 或 *H-ras* 的细胞中未观察到这种效果。综上所述,这些数据表明 *BARF1* 的致瘤特性依赖于其与其他癌基因的协同作用。

*BARF1* 还通过促进先天和适应性免疫反应的逃避间接地对上皮癌发生起作用。这种病毒蛋白负责隔离巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF),从而导致巨噬细胞分化和活性受到破坏<sup>[29]</sup>。此外,M-CSF 与 s*BARF1* 预孵育可抑制骨髓性白血病细胞中的M-CSF受体、Akt和MAPK磷酸化,这说明 *BARF1* 在巨噬细胞的存活和增殖能力中发挥作用<sup>[29]</sup>。还有报道称, *BARF1* 的结构与CD80(抗原递呈细胞表达的刺激分子)之间存在密切关系。这种同源性可使 s*BARF1* 干扰由促炎巨噬细胞(M1)表达的CD80介

导的T细胞活化<sup>[26]</sup>。总而言之, *BARF1* 在巨噬细胞介导的先天抗肿瘤反应中的逃避构成了其核心作用。

**3.3 *BNLF2a*** 2005年的一项研究表明,CD8<sup>+</sup>T细胞对正在经历裂解周期的EBV感染B细胞的识别能力会随着裂解周期的进展而急剧下降,与此同时CD8<sup>+</sup>T细胞与抗原处理相关的转运体(TAP)功能和HLA I类表面表达也会降低。通过对EBV基因产物进行筛选,发现了 *BNLF2a* 参与了这一过程。它可以通过 *HLA-A*、*HLA-B* 和 *HLA-C* 等位基因有效地破坏了CTL介导的细胞裂解<sup>[30]</sup>。这项研究还表明, *BNLF2a* 下调了细胞表面主要组织相容性复合体(MHC) I类的水平,并显著阻断了TAP的功能。TAP是ABC转运体家族的成员,它能将多肽从细胞膜转运到内质网(ER),以便与新合成的MHC I类分子结合,并随后呈递给CD8<sup>+</sup>T细胞。敲除 *BNLF2a* 能使CTL更好地识别即刻早期抗原和早期抗原,但对晚期抗原没有影响,这表明 *BNLF2a* 的表达具有阶段特异性,主要阻碍即刻早期蛋白和早期蛋白的呈递<sup>[30]</sup>。

研究发现, *BNLF2a* 在相当比例的EBV相关胃癌中表达<sup>[31]</sup>。随后, *BNLF2a* 也被证明在原发性NPC活检组织和源自患者的鼻咽癌异种移植物中表达<sup>[32]</sup>。研究人员观察到 *BNLF2a* 表达与这些体细胞改变之间存在相互排斥的趋势,这表明鼻咽癌细胞通过宿主与病毒的合作来避免免疫检测。与这些观察结果一致,单细胞转录组分析也发现 *BNLF2a/2b* 的表达与参与免疫反应的宿主基因之间存在强相关性<sup>[33]</sup>。综上所述,这些数据有力地证明了 *BNLF2a* 除了对EBV感染的免疫逃避发挥重要作用外,也推动着肿瘤的发生。

**3.4 *vIL-10*** *vIL-10* 是由EBV的BCRF1编码,是EBV在宿主体内产生的细胞因子受体的模拟物<sup>[34]</sup>。BCRF1最初被认为只在裂解周期晚期表达,但原代B细胞感染EBV后也能立即检测到其表达。值得注意的是,早期的体外研究表明, *vIL-10* 存在于EBV转化细胞系中,而BCRF1反义寡核苷酸可抑制B细胞转化,这表明BCRF1在EBV相关肿瘤发生过程中发挥着关键作用<sup>[34]</sup>。目前也有其他研究报道BCRF1在NK/T淋巴瘤和BL中表达,并且也已在多种与EBV相关的恶性肿瘤中得到证实<sup>[35]</sup>。

*vIL-10* 与其人类对应物 *IL-10* (*hIL-10*) 具有非常高的序列相似性,并在免疫反应中发挥重要功能。*hIL-10* 主要由几种类型的细胞产生,如单核细胞、巨噬细胞和活化的淋巴细胞<sup>[34]</sup>。一方面,*hIL-10* 具有免疫抑制特性,它能增强胸腺细胞的增殖、 $CD8^+$  T 细胞的生成和自然杀伤(NK)细胞的能力,从而抑制巨噬细胞、树突状细胞的功能和细胞因子的合成,阻断它们作为成本刺激细胞和/或抗原递呈细胞的作用。另一方面,*hIL-10* 具有免疫刺激特性。*hIL-10* 可以刺激初始人类 B 细胞,并通过与 TGF- $\beta$  协同作用激活抗 CD40 细胞的生成,进而分泌免疫球蛋白 A<sup>[34]</sup>。与 *hIL-10* 相比,*vIL-10* 具有类似的免疫抑制作用,但不具有 *hIL-10* 的免疫刺激效应,包括增强细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)的增殖和 B 细胞的扩增。最近的研究发现,在 EBV 阳性 NPC 患者中存在较高浓度的 *vIL-10* 和 *IL-6*。*vIL-10* 可以通过激活 JAK2/STAT3 信号通路上调 *IL-6* 蛋白水平来促进癌细胞增殖和 G1 向 S 期的传递。此外,EBV 可以诱导细胞毒性 T 细胞的形成,而 *vIL-10* 可以阻断细胞毒性 T 细胞的功能<sup>[35]</sup>。总体而言,以上证据显示 *vIL-10* 具有协助 EBV 相关肿瘤发生免疫逃逸的潜在能力,关于 *vIL-10* 具体作用以及相关机制有待进一步的探索。

**3.5 *BILF1*** *BILF1* 最初是由于其与马痘疹病毒 2 型 E6 病毒 *GPCR* 基因的同源性而被认为是一种 G 蛋白偶联受体,但其作为 *GPCR* 的功能角色直到 2005 年才被研究<sup>[36]</sup>。*BILF1* 作为一种不依赖配体的 *GPCR*,*BILF1* 能够调节多种细胞内通路,包括 *NF- $\kappa$ B* 和 *cAMP* 反应元件结合蛋白(CREB)通路<sup>[36]</sup>。*BILF1* 也鉴定为早期裂解基因,其表达也与 EBV 感染的主要潜伏模式一起在各种原发性肿瘤活检中被检测到<sup>[37]</sup>。

在肿瘤发生的背景下,*BILF1* 的另一个引人注目的特性是其作为癌基因的功能<sup>[37]</sup>。研究显示,*BILF1* 在体外能够诱导 NIH3T3 细胞形成聚集灶,并通过 EKT 依赖的 Gai 信号通路在体内形成肿瘤。*BILF1* 还以持续活跃的方式刺激 VEGF 的分泌<sup>[37]</sup>。此外,*BILF1* 也被证实能上调细胞间黏附分子-1(ICAM-1)<sup>[38]</sup>。对 ICAM-1 启动子上的 *NF- $\kappa$ B* 结合位点进行定向突变,可显著降低 *BILF1* 上调 ICAM-1 的能力,这表明 *BILF1* 是通过 *NF- $\kappa$ B* 通路机制发挥

其功能的<sup>[38]</sup>。结合在 EBV 相关肿瘤中检测到的 *BILF1*,上述结果表明该蛋白在恶性肿瘤的发病机制中扮演着重要角色。

**3.6 *BGLF5* 和 *BALF3*** *BGLF5* 和 *BALF3* 基因产物均具有 DNA 切割活性,并已被证明通过类似机制促进基因组不稳定性。研究表明,NPC 细胞中的基因组不稳定性程度和染色体畸变与 EBV 裂解再激活的频率成正比<sup>[39]</sup>。对可能导致 NPC 细胞基因组不稳定性 EBV 早期裂解基因进行筛查,发现 *BGLF5* 是一个强有力的 DNA 双链断裂诱导因子。后续实验确认,仅 *BGLF5* 就能够通过直接诱导 DNA 损伤和间接抑制 DNA 修复,触发上皮细胞中的基因组不稳定性,从而导致染色体畸变、微卫星不稳定性(MSI)和遗传突变<sup>[40]</sup>。

*BALF3* 是一种终止酶,在 EBV 裂解周期中切割新合成的病毒 DNA,并将单位长度的病毒基因组转位到前壳体中<sup>[41]</sup>。研究表明,在 NPC 细胞模型中,*BALF3* 可诱导 DNA 链断裂、微核形成和染色体畸变累积<sup>[42]</sup>。*BALF3* 的作用取决于其核酸酶活性。值得注意的是,*BALF3* 还促成了 NPC 细胞的多种恶性表型,如体外增强细胞迁移、侵袭和球形形成,以及体内促进肿瘤生长<sup>[42]</sup>。

**3.7 *BNRF1*** *BNRF1* 是一种病毒外壳蛋白,促进包含核壳的病毒颗粒从内体转移到细胞核<sup>[43]</sup>。在一项旨在研究  $CD8^+$  T 细胞记忆中 EBV 裂解蛋白的免疫优势问题的研究中,意外地发现 *BNRF1* 特异性 T 细胞克隆也能识别潜伏感染的、生长转化的 B 淋巴瘤母细胞系(LCL),这意味着 *BNRF1* 也在 EBV 感染的 B 细胞中表达,并可能与病毒相关的淋巴组织增生性疾病有关<sup>[44]</sup>。研究表明,*BNRF1* 能够与组蛋白 H3.3 伴侣蛋白 DAXX 结合,并解散 DAXX-ATRX 复合物,其中 DAXX 和 ATRX 是抑制潜伏期病毒基因表达的细胞蛋白。*BNRF1* 与 DAXX 的相互作用还负责将 *BNRF1* 定位到与宿主抗病毒抵抗和转录抑制相关的前髓性白血病(PML)核小体,同时促进选择性病毒潜伏基因的表达,而这些潜伏基因对 EBV 诱导的 B 细胞增殖和永生是必需的<sup>[44]</sup>。RNAseq 分析在各种 EBV 驱动的恶性肿瘤中持续检测到 *BNRF1* 的表达(表 1),进一步支持了上述结果<sup>[45]</sup>。

表1 在EBV相关癌症的肿瘤组织中通过RNA测序检测到的裂解基因

基因名称	裂解基因功能	癌症类型
<i>BZLF1</i>	Transactivator	GC、NPC、COAD、BL、DLBCL
<i>BRLF1</i>	Transactivator	GC、NPC、DLBCL
<i>BORF2</i>	Ribonucleotide reductase large subunit	BL、ENKTCL
<i>BSLF1</i>	BSLF1	GC、DLBCL
<i>BSLF2/BMLF1</i>	mRNA export factor ICP27 homolog	PTCL、DLBCL、AITL
<i>BALF1</i>	vBcl-2	GC、NPC
<i>BALF2</i>	Single-stranded DNA-binding protein	GC、NPC、COAD、BL、DLBCL、ENKTCL
<i>BALF3</i>	Terminase large subunit	GC、NPC、BL、DLBCL、AITL、ENKTCL
<i>BHLF1</i>	Involved in viral DNA synthesis	AITL、BL、DLBCL
<i>BHRF1</i>	vBcl-2	GC、NPC、BL、DLBCL
<i>BMRF1</i>	DNA polymerase processivity factor	GC、COAD、BL、DLBCL、ENKTCL
<i>BNLF2a</i>	Inhibitor of TAP	GC、NPC、BL、DLBCL、PTCL、AITL、ENKTC
<i>BNLF2b</i>	Notreported	GC、NPC、DLBCL、PTCL、ENKTCL
<i>BCRF1</i>	vIL-10	GC、NPC、AITL、BL
<i>BALF4</i>	Envelope glycoprotein B	GC、NPC、BL、DLBCL、ENKTCL
<i>BKRF2</i>	gL、gp25	BL、DLBCL
<i>BNRF1</i>	Major tegument protein	GC、NPC、BL、AITL、ENKTCL
<i>BLLF1</i>	gp350/220	GC

COAD:结直肠癌;DLBCL:弥漫性大B细胞淋巴瘤;ENKTCL:结外鼻型NK-T细胞淋巴瘤;PTCL:外周T细胞淋巴瘤;AITL:血管免疫细胞性T细胞淋巴瘤。

**3.8 *BHRF1*** 几项早期的研究发现了 *BHRF1* mRNA 在霍奇金淋巴瘤、NK/T 细胞淋巴瘤和 NPC 组织样本中有所表达<sup>[46]</sup>。然而,人们认为 *BHRF1* 很可能是由肿瘤中进入裂解周期的稀有细胞表达的。证明 *BHRF1* 表达在肿瘤钟表达的首个证据来自对 BL 的研究<sup>[47]</sup>。研究表明,在 BL 细胞中,*BHRF1* 以潜伏蛋白的形式连续表达,这些细胞对细胞凋亡表现出异常的抵抗力,这表明它可能有助于 EBV 驱动的淋巴瘤的发生。随后,在 DLBCL、NPC 和 EB-VaGC 相关胃癌的活组织切片中也证实了 *BHRF1* 的表达<sup>[48]</sup>。

一系列研究发现了 *BHRF1* 的抗凋亡特性。研究表明,*BHRF1* 的功能类似于 Bcl-2,能抑制 DNA 损伤剂诱导的细胞凋亡,并且 *BHRF1* 能保护人类上皮细胞免受顺铂、肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、抗 Fas、活化单核细胞和血清剥夺等多种刺激诱导的细胞凋亡。它还通过阻止细胞凋亡来延迟上皮细胞的终末分化<sup>[49]</sup>,这意味着它在恶性肿瘤的发生方面发挥了一定作用。在 BL 发生的情况下,*BHRF1* 的表达赋予了对多种化疗药物的强效抗性,其潜在机制被归因

于它能够与几种细胞促凋亡 Bcl-2 蛋白(Bim、Bid、Puma 和 Bak)相互作用并对其进行抑制<sup>[50]</sup>。此外,在 BL 模型中,小鼠造血干细胞和祖细胞中 *BHRF1* 的表达加速了 MYC 诱导的淋巴瘤的发展<sup>[50]</sup>,进一步证明了 *BHRF1* 在肿瘤致病性和肿瘤细胞存活中的作用。

*BHRF1* 对通过线粒体调节促进细胞存活的影响也得到了报道。在 NPC 细胞系中,*BHRF1* 能够诱导线粒体膜通透性转变(MMPT),导致活性氧(ROS)生成增加,进而激活有丝分裂<sup>[48]</sup>。这种分子变化阻止了细胞凋亡,有利于 NPC 的肿瘤发生。

4 总 结

越来越多的证据表明,EBV 编码的裂解基因可通过几种协调机制促进致癌过程。裂解周期启动后,BNLF2a 产生,以关闭 TAP 介导的抗原肽向 ER 的运输,从而防止 MHC I 类分子的肽负载。BGLF5 发挥协同作用,阻止新 MHC I 类分子的合成。BCRF1 编码的 vIL-10 会进一步损害通过 I 类途径进行的抗原递呈。到达细胞表面的 MHC I 类复合

物会被 BILF1 下调。这些事件共同确保有效干扰 T 细胞的识别,从而避免病毒感染细胞被消灭。BGLF5 和 BALF3 通过诱导微核形成和 DNA 链断裂引发基因组不稳定性,而 BNRF1 则刺激中心体扩增,导致染色体畸变。携带异常基因的 EBV 感染细胞通过抑制细胞凋亡和调节自噬来逃避宿主防御机制。BHRF1 通过抑制几种促凋亡的 Bcl-2 蛋白,促进 EBV 感染细胞的存活。此外,BHRF1 还劫持线粒体动力学,刺激有丝分裂,从而有利于细胞增殖。裂解基因表达在致癌过程中的作用可能并不局限于上述基因/过程,因为在 EBV 肿瘤中也经常检测到其他几个裂解基因的表达,如 *LF1-3*。然而,目前有关 *LF1-3* 功能的信息还很有限,因此有必要进一步研究这些裂解基因在 EBV 生物学和致癌过程中的作用。

EBV 编码的裂解基因能够影响与癌变相关的基本过程,如免疫逃避、基因组不稳定性 and 细胞存活,这对传统观点(即只有病毒潜伏基因才会导致 EBV 相关癌症)提出了挑战。*EBV* 裂解基因对致癌过程的启动和对转化表型的维持有多大作用仍有待确定。未来的研究需要关注 *EBV* 基因表达与肿瘤微环境中其他因素(如浸润淋巴细胞、癌症相关成纤维细胞)的关系,以及这些因素如何影响对免疫检查点抑制等新型干预措施的反应。这种认识将会为制定 NPC 和其他 EBV 相关肿瘤患者的个体化治疗策略提供令人振奋的前景。

## 参考文献:

- [1] LI W T, DUAN X B, CHEN X X, et al. Immunotherapeutic approaches in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma[J]. *Frontiers in immunology*, 2022, 13: 1079515.
- [2] BABCOCK G J, HOCHBERG D, THORLEY-LAWSON A D. The expression pattern of Epstein-Barr virus latent genes in vivo is dependent upon the differentiation stage of the infected B cell[J]. *Immunity*, 2000, 13(4): 497-506.
- [3] REUSCH J A, NAWANDAR D M, WRIGHT K L, et al. Cellular differentiation regulator BLIMP1 induces Epstein-Barr virus lytic reactivation in epithelial and B cells by activating transcription from both the R and Z promoters[J]. *Journal of virology*, 2015, 89(3): 1731-1743.
- [4] MÜNZ C. Latency and lytic replication in Epstein-Barr virus-associated oncogenesis[J]. *Nature reviews microbiology*, 2019, 17(11): 691-700.
- [5] BAYDA N, TILLOY V, CHAUNAVEL A, et al. Comprehensive epstein-barr virus transcriptome by RNA-sequencing in angioimmunoblastic T cell lymphoma (AITL) and other lymphomas[J]. *Cancers*, 2021, 13(4): 610.
- [6] XU X T, ZHU N N, ZHENG J M, et al. EBV abortive lytic cycle promotes nasopharyngeal carcinoma progression through recruiting monocytes and regulating their directed differentiation[J]. *PLoS pathogens*, 2024, 20(1): e1011934.
- [7] LIU X L, WANG M S, CHENG A C, et al. Functions of the UL51 protein during the herpesvirus life cycle[J]. *Frontiers in microbiology*, 2024, 15: 1457582.
- [8] DAMANIA B, KENNEY S C, RAAB-TRAUB N. Epstein-Barr virus: biology and clinical disease[J]. *Cell*, 2022, 185(20): 3652-3670.
- [9] TUGIZOV S M. Molecular pathogenesis of human immunodeficiency virus-associated disease of oropharyngeal mucosal epithelium[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(5): 1444.
- [10] ZHAO Y H, ZHANG Q, ZHANG B T, et al. Epstein-barr viruses: their immune evasion strategies and implications for autoimmune diseases[J]. *International journal of molecular sciences*, 2024, 25(15): 8160.
- [11] ALI A, OHASHI M, CASCO A, et al. Rta is the principal activator of Epstein-Barr virus epithelial lytic transcription[J]. *PLoS pathogens*, 2022, 18(9): e1010886.
- [12] ALBANESE M, TAGAWA T, HAMMERSCHMIDT W. Strategies of Epstein-Barr virus to evade innate antiviral immunity of its human host[J]. *Frontiers in microbiology*, 2022, 13: 955603.
- [13] LIN S Y, ZHOU H Q, CHEN G, et al. Early change of plasma Epstein-Barr virus DNA load and the viral lytic genome level could positively predict clinical outcome in recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma receiving anti-programmed cell death 1 monotherapy[J]. *BMC cancer*, 2024, 24(1): 797.
- [14] WEN W R, IWAKIRI D, YAMAMOTO K, et al. Epstein-Barr virus BZLF1 gene, a switch from latency to lytic infection, is expressed as an immediate-early gene after primary infection of B lymphocytes[J]. *Journal of virology*, 2007, 81(2): 1037-1042.
- [15] ZHANG G Y, LI Z Z, ZHOU Q. Utility of serum EB virus zta antibody in the diagnostic of nasopharyngeal carcinoma: evidences from 2, 126 cases and 15, 644 controls[J]. *Frontiers in oncology*, 2019, 9: 1391.

- [16] HONG S, WANG D X, HORTON J R, et al. Methyl-dependent and spatial-specific DNA recognition by the orthologous transcription factors human AP-1 and Epstein-Barr virus Zta[J]. *Nucleic acids research*, 2017, 45(5): 2503-2515.
- [17] ONIMARU M, YONEMITSU Y. Angiogenic and lymphangiogenic cascades in the tumor microenvironment[J]. *Frontiers in bioscience*, 2011, 3(1): 216-225.
- [18] YOSHIZAKI T, SATO H, MURONO S, et al. Matrix metalloproteinase 9 is induced by the Epstein-Barr virus BZLF1 transactivator[J]. *Clinical & experimental metastasis*, 1999, 17(5): 431-436.
- [19] WU F Y, CHEN H L, WANG S E, et al. CCAAT/enhancer binding protein alpha interacts with ZTA and mediates ZTA-induced p21(CIP-1) accumulation and G(1) cell cycle arrest during the Epstein-Barr virus lytic cycle[J]. *Journal of virology*, 2003, 77(2): 1481-1500.
- [20] MORALES-SÁNCHEZ A, FUENTES-PANANA E M. The immunomodulatory capacity of an epstein-barr virus abortive lytic cycle: potential contribution to viral tumorigenesis[J]. *Cancers*, 2018, 10(4): 98.
- [21] HSU M, WU S Y, CHANG S S, et al. Epstein-Barr virus lytic transactivator Zta enhances chemotactic activity through induction of interleukin-8 in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Journal of virology*, 2008, 82(7): 3679-3688.
- [22] YAN C, LIU W Y, LI J, et al. Bioactive terpenoids from *Santalum album* derived endophytic fungus *Fusarium* sp. YD-2[J]. *RSC advances*, 2018, 8(27): 14823-14828.
- [23] JIANG R C, CABRAS G, SHENG W, et al. Synergism of BARF1 with Ras induces malignant transformation in primary primate epithelial cells and human nasopharyngeal epithelial cells[J]. *Neoplasia*, 2009, 11(9): 964-973.
- [24] SETO E, YANG L X, MIDDELDORP J, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded BARF1 gene is expressed in nasopharyngeal carcinoma and EBV-associated gastric carcinoma tissues in the absence of lytic gene expression [J]. *Journal of medical virology*, 2005, 76(1): 82-88.
- [25] LUO B, WANG Y, WANG X F, et al. Expression of Epstein-Barr virus genes in EBV-associated gastric carcinomas [J]. *World journal of gastroenterology*, 2005, 11(5): 629-633.
- [26] HOEBE E K, LE LARGE T Y, GREIJER A E, et al. BamHI-a rightward frame 1, an Epstein-Barr virus-encoded oncogene and immune modulator[J]. *Reviews in medical virology*, 2013, 23(6): 367-383.
- [27] SETO E, OOKA T, MIDDELDORP J, et al. Reconstitution of nasopharyngeal carcinoma-type EBV infection induces tumorigenicity[J]. *Cancer research*, 2008, 68(4): 1030-1036.
- [28] KHATTAR E, TERGAONKAR V. Transcriptional regulation of telomerase reverse transcriptase (TERT) by MYC [J]. *Frontiers in cell and developmental biology*, 2017, 5: 1.
- [29] SHIM A H, CHANG R A, CHEN X Y, et al. Multipronged attenuation of macrophage-colony stimulating factor signaling by Epstein-Barr virus BARF1[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2012, 109(32): 12962-12967.
- [30] ELSAYED A, VON HARDENBERG S, ATSCHEKZEI F, et al. Phenotypic and pathomechanistic overlap between tapasin and TAP deficiencies[J]. *The journal of allergy and clinical immunology*, 2024, 154(4): 1069-1075.
- [31] STRONG M J, LASKOW T, NAKHOUL H, et al. Latent expression of the epstein-barr virus (EBV)-encoded major histocompatibility complex class I TAP inhibitor, BNLF2a, in EBV-positive gastric carcinomas[J]. *Journal of virology*, 2015, 89(19): 10110-10114.
- [32] WU C C, CHEN M S, LEE T Y, et al. Epstein-barr virus BRLF1 induces PD-L1 expression in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Viral immunology*, 2024, 37(2): 115-123.
- [33] JIN S Z, LI R Y, CHEN M Y, et al. Single-cell transcriptomic analysis defines the interplay between tumor cells, viral infection, and the microenvironment in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cell research*, 2020, 30(11): 950-965.
- [34] MCKENZIE J, LOPEZ-GIRALDEZ F, DELECLUSE H J, et al. The epstein-barr virus immunoevasins BCRF1 and BPLF1 are expressed by a mechanism independent of the canonical late pre-initiation complex[J]. *PLoS pathogens*, 2016, 12(11): e1006008.
- [35] REN Y X, YANG J, LI M, et al. Viral IL-10 promotes cell proliferation and cell cycle progression via JAK2/STAT3 signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Biotechnology and applied biochemistry*, 2020, 67(6): 929-938.
- [36] JAEGER H K, DAVIS D A, NAIR A, et al. Mechanism and therapeutic implications of pomalidomide-induced immune surface marker upregulation in EBV-positive lymphomas[J]. *Scientific reports*, 2023, 13(1): 11596.
- [37] DOROTHEA M, XIE J, YIU S P T, et al. Contribution of epstein-barr virus lytic proteins to cancer hallmarks and

- implications from other oncoviruses[J]. *Cancers*, 2023, 15(7): 2120.
- [38] GUO Q W, GAO J, CHENG L, et al. The Epstein-Barr virus-encoded G protein-coupled receptor BILF1 upregulates ICAM-1 through a mechanism involving the NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 2020, 84(9): 1810-1819.
- [39] QUAN H, KIM H. Protein kinase C and matrix metalloproteinases expression using phorbol myristate acetate in degenerative intervertebral disc cells[J]. *Clinics in orthopedic surgery*, 2024, 16(5): 827-835.
- [40] CASCO A, JOHANNSEN E. EBV reactivation from latency is a degrading experience for the host[J]. *Viruses*, 2023, 15(3): 726.
- [41] CHIU S H, WU M C, WU C C, et al. Epstein-Barr virus BALF3 has nuclease activity and mediates mature virion production during the lytic cycle[J]. *Journal of virology*, 2014, 88(9): 4962-4975.
- [42] CHIU S H, WU C C, FANG C Y, et al. Epstein-Barr virus BALF3 mediates genomic instability and progressive malignancy in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(18): 8583-8601.
- [43] CASCO A, OHASHI M, JOHANNSEN E. Epstein-Barr virus induces host shutoff extensively via BGLF5-independent mechanisms[J]. *Cell reports*, 2024, 43(10): 114743.
- [44] YIU S P T, GUO R, ZERBE C, et al. Epstein-Barr virus BNRF1 destabilizes SMC5/6 cohesin complexes to evade its restriction of replication compartments[J]. *Cell reports*, 2022, 38(10): 110411.
- [45] FORRER P, PALIANINA D, STÜHLER C, et al. Unveiling signaling pathways inducing MHC class II expression in neutrophils[J]. *Frontiers in immunology*, 2024, 15: 1444558.
- [46] MURRAY-NERGER L A, LOZANO C, BURTON E M, et al. The nucleic acid binding protein SFPQ represses EBV lytic reactivation by promoting histone H1 expression[J]. *Nature communications*, 2024, 15(1): 4156.
- [47] JI H, YANG T H, LI C L, et al. EBV-encoded miRNAs BHRF1-1 and BART2-5p aggravate post-transplant lymphoproliferative disorder via LZTS2-PI3K-AKT axis[J]. *Biochemical pharmacology*, 2023, 214: 115676.
- [48] SONG S J, JIANG Z Y, SPEZIA-LINDNER D E, et al. BHRF1 enhances EBV mediated nasopharyngeal carcinoma tumorigenesis through modulating mitophagy associated with mitochondrial membrane permeabilization transition[J]. *Cells*, 2020, 9(5): 1158.
- [49] GLON D, VILMEN G, PERDIZ D, et al. Essential role of hyperacetylated microtubules in innate immunity escape orchestrated by the EBV-encoded BHRF1 protein[J]. *PLoS pathogens*, 2022, 18(3): e1010371.
- [50] FITZSIMMONS L, CARTLIDGE R, CHANG C, et al. EBV BCL-2 homologue BHRF1 drives chemoresistance and lymphomagenesis by inhibiting multiple cellular proapoptotic proteins[J]. *Cell death and differentiation*, 2020, 27(5): 1554-1568.

本文引用格式:

邓溢章, 钟 茜. *EBV*裂解基因在肿瘤发生、发展中的作用[J]. 广西医科大学学报, 2024, 41(9): 1252-1260. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.09.004

DENG Y Z, ZHONG Q. The role of *EBV* lytic genes in tumor development and progression[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(9): 1252-1260. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.09.004