

· 综 述 ·

病毒蛋白调控逆转录元件 I 型长弥散核元件活性的影响及其意义

赵梓含, 王宇 综述, 赵一霏, 赵可 审校

吉林大学白求恩第一医院转化医学研究院艾滋病与病毒研究所, 吉林 长春 130061

摘要: I 型长弥散核元件(long interspersed element-1, LINE-1)是已知人类细胞中唯一具有活性的、可自主转座的逆转录元件(retroelements),与自身免疫性疾病相关,对细胞的抗病毒天然免疫,特别是对细胞干扰素(interferon, IFN)水平起到重要的激活、调控作用。本文阐述了包括人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)等病毒的几种非结构蛋白参与调控 LINE-1 活性的机制。这些机制既保证了病毒基因组的正常表达,又参与调控细胞天然免疫水平,对相关机制的抑制可能为治疗病毒感染引起的疾病提供新的方法。

关键词: I 型长弥散核元件;Nef;Vpr;Vpx;HBx

中图分类号: R392 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5503(2023)01-0098-07

Effect and significance of viral proteins regulating activity of retroelement long interspersed element 1

ZHAO Zi-han, WANG Yu, ZHAO Yi-fei, ZHAO Ke

*Institute of Virology and AIDS Research, the First Hospital of Jilin University,
Changchun 130061, Jilin Province, China*

Corresponding author: ZHAO Ke, E-mail: zhaoke@jlu.edu.cn

Abstract: Long interspersed element-1 (LINE-1) is the only known active and autonomously transposable retroelement in human cells, which is related to autoimmune diseases and plays important roles in activating and regulating the antiviral innate immunity of cells, especially the level of interferon (IFN). This paper reviews the mechanisms of several non-structural proteins from human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus (HBV) and other viruses participating in the regulation of LINE-1 activity. These mechanisms not only ensure the normal expression of viral genome, but also participate in the cellular innate immunity regulation, the inhibition of which may provide new strategies to develop treatments of diseases caused by viruses.

Keywords: Long interspersed element-1 (LINE-1); Nef; Vpr; Vpx; HBx

逆转录元件(retroelements)又称逆转录转座子(retrotransposons),是一类非常特殊的 DNA 元件^[1]。这些元件可以经由 DNA 到 RNA 再到 DNA 的方式实现自身的复制,以扩增基因组 DNA 上的拷贝数。这些逆转录元件在细胞内的拷贝数非常巨大,以一个人二倍体细胞为例,各种逆转录元件占据基因组 DNA 全部长度的 40% 以上。这些逆转录元件得以拥有大量拷贝数的一个原因是其在细胞中长期存在。一方面,逆转录元件被发现在动物、植物、甚至原核

细胞中广泛存在^[2-3]。考虑到真核、原核细胞之间在细胞膜组成、细胞内容物、基因组 DNA 所在空间及形式方面均存在巨大差异,暗示可能早在寒武纪之前,地球上的细胞中可能就已经存在逆转录元件了。另一方面,基于核酸序列的进化分析表明,其中多数逆转录元件的进化史均达到几千万年以上,某些甚至超过 6 亿年,真正达到了前寒武纪时期^[4]。可以说,逆转录元件的进化与地球上整个生物圈的进化息息相关;而更重要的是,逆转录元件的复制活性通过改变染色质结构、重排基因组序列、沉默乃至断裂旧基因、生成新基因等手段,为生物进化提供了重要的源动力^[1]。因此,逆转录元件是细胞中重要的组

基金项目: 国家自然科学基金(32170146, 32100108);吉林省自然科学基金(20220101285JC)。

通信作者: 赵可, E-mail: zhaoke@jlu.edu.cn

成部分。

近年来,越来越多的证据则表明,逆转录元件的复制过程与细胞内天然免疫系统的活化水平存在紧密关联,后者则在抵御病毒入侵时发挥重要功能。因此,参与调控细胞内逆转录元件活性可能会成为某些病毒间接调控干扰素表达的方式。本文首先介绍了 I 型长弥散核元件(long interspersed element-1, LINE-1),一种唯一已知可在人体细胞中自主完成复制的逆转录元件,综述了几种病毒蛋白对 LINE-1 活性的影响及其相关机制,并探讨了病毒调控 LINE-1 活性可能产生的生理学意义,以期针对相关感染和疾病的药物研发提供支持。

1 逆转录元件的介绍

1.1 逆转录元件 LINE-1 转座是遗传重组的一种特殊形式,将某些遗传元件从一个 DNA 位点移动至另一个 DNA 位点,这些可移动的遗传元件称为转座子^[5]。根据转座机制和结构特征对转座子进行分类,可分为 DNA 和 RNA 转座子^[6-7]。其中 RNA 转座子又被称为逆转录转座子或逆转录元件,其转座过程是通过一种特殊的“复制-粘贴”模式,即先将 DNA 转录成 RNA,再反转录成 cDNA,然后插入基因组中的某一新位点,且原位置不被剪切^[8]。逆转录元件又根据其是否带有长末端重复序列,进一步细分为长末端重复序列(long terminal repeat, LTR)逆转录元件和非 LTR 逆转录元件。

LINE-1 是人体细胞中已知唯一一类具有复制活性的、可自主转座的非 LTR 逆转录元件。LINE-1 的插入主要发生在基因组的非编码区^[9-10]。在人类基因组上,LINE-1 的拷贝数约 50 万个,占整个基因组的 16.9%^[11]。但其中绝大部分在基因组中均已失去复制活性,可能是 LINE-1 在复制过程中仅能以较低的效率合成出全长的 LINE-1 序列,大部分的复制序列均不完整,失去了再次逆转座的功能。就结果而言,目前单一人体细胞中仅有 80 ~ 150 个拷贝是全长且能够自我复制的 LINE-1^[12]。

1.2 LINE-1 的结构功能及其逆转座机制 LINE-1 拷贝全长约 6 000 bp,中间包含 2 个开放读框 *ORF1* 和 *ORF2*,两侧则分别为具有启动子功能的 5'非编码区(5'UTR),以及 1 个带有 polyA 尾的 3'UTR^[13](图 1A)。*ORF1* 编码 1 个大小约 40 kD 的蛋白,被命名为 ORF1p。ORF1p 作为核酸伴侣,可稳定新转录的 LINE-1 RNA^[14-15]; *ORF2* 编码 ORF2p,大小约 150 kD,提供逆转录转座过程所需的 DNA 内切酶和逆转录

酶活性^[16]。ORF1p 和 ORF2p 是 LINE-1 逆转座所必需的两种蛋白质,在翻译后会与 LINE-1 RNA 发生相互作用,并在其他细胞因子的参与下形成 LINE-1 核糖核蛋白复合物(ribonucleoprotein particle, RNP)。LINE-1 RNP 是 LINE-1 发挥逆转座活性的基本功能单位^[13]。在最近的一项研究中,还发现 LINE-1 RNP 可作为内源性触发器,通过 RNA 传感途径激活天然免疫系统^[17]。

LINE-1 通过靶点介导的逆转录过程(target-site primed reverse transcription, TPRT)在基因组中进行复制^[18](图 1B)。ORF1p 保护 LINE-1 RNP 中的 LINE-1 mRNA 免被降解、促进 LINE-1 mRNA 从核糖体上脱离以及辅助 LINE-1 RNP 进入细胞核^[14-15]。随后, LINE-1 RNP 进入细胞核并到达基因组 DNA,识别基因组 DNA 中的 TTTTAA 或相似序列,ORF2p 通过其核酸内切酶活性识别切割位点 5'-TTTT / AA-3',在 A 与 T 之间进行剪切,从而产生单链 DNA 断裂,暴露出游离的 TTTT 序列。这段序列可以与 LINE-1-mRNA 上的 polyA 序列通过碱基互补的方式结合,然后 ORF2p 会利用切口处的 TTTT 为引物,以 LINE-1 mRNA 为模板,逆转录产生 LINE-1 cDNA。最后以目前尚不清楚的机制整合至基因组,完成逆转座过程,该过程就是 TPRT 过程^[19-20]。

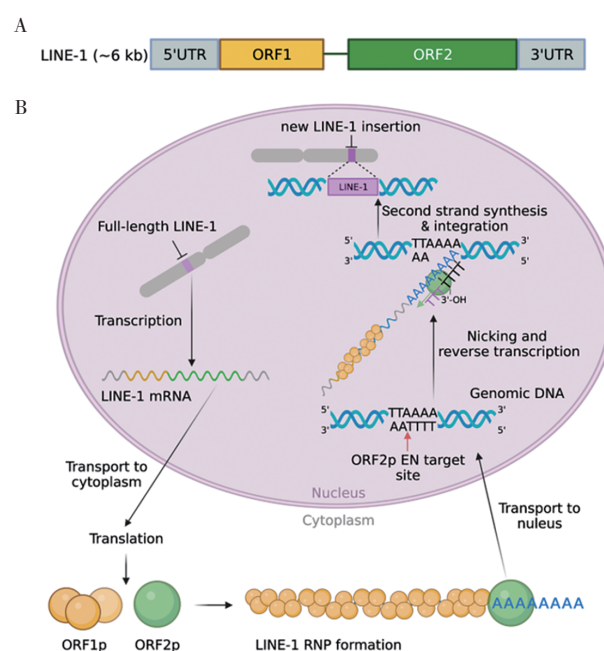


图 1 LINE-1 结构(A)和 LINE-1 逆转座复制(B)的示意图

Fig. 1 Schematic diagram of LINE-1 structure (A) and LINE-1 retrotransposition cycle (B)

1.3 LINE-1 的生物学意义 LINE-1 作为人体细胞中唯一具有自主转座活性的逆转录元件,是基因组改

变和进化的主要参与者。从 LINE-1 的复制过程中对 AATTTT 基序的识别可知,在任意单侧 DNA 链上,平均每 4 096 个碱基就会包含 1 个 LINE-1 可识别的位点;且 LINE-1 还允许该基序的碱基可以在一定程度上存在变化。相当于 LINE-1 在剪切和插入时无论在染色质、正反义链、还是具体位点的选择上均是高度随机的。其可能产生的后果至少包括:①改变基因组结构,如因正反义链剪切位置的相近引发的染色质断裂以及后续可能产生的重排;②突变基因,如插入蛋白编码区从而改变基因的开放阅读框;③调节基因表达,如插入基因上游从而改变相应启动子的结构和功能。这些结果均可作为基因组带来新的遗传信息,提供进化的基本动力,在生物进化中具有重要意义。

与此同时,LINE-1 的异常活化也会导致基因组的不稳定性,最终引发多种疾病。1988 年的 1 例 A 型血友病是第一个被证实与 LINE-1 有关的基因疾病,是由于 LINE-1 插入患者 X 染色体从而导致血友病发生^[21]。另外,LINE-1 的自主转座还与癌症的发生和发展密不可分。研究显示,在多种肿瘤和癌变组织中均发现了 LINE-1 表达上调的证据,认为 LINE-1 可能是促进癌症产生的一个潜在因素^[22-23]。通常仅在恶性化程度较高的肿瘤组织中才能检测出 ORF1p 的表达,因此,LINE-1 ORF1p 有潜力成为肿瘤恶性程度检测的分子标志物^[24-25]。

LINE-1 对免疫系统也具有重要调控作用。一方面,LINE-1 与自身免疫性疾病的发病相关,会导致系统性红斑狼疮、Aicardi-Goutières 综合征(Aicardi-Goutières syndrome, AGS)等自身免疫疾病的发生^[26-27];另一方面,LINE-1 也通过多种途径引发细胞的抗病毒天然免疫,由于逆转录步骤的存在,LINE-1 在复制过程中会同时产生 RNA 和 DNA,后两者则会进一步活化细胞内的各种 RNA 和 DNA 感受通路,在调控固有免疫与适应性免疫中均起到重要作用^[28]。LINE-1 作为抗病毒免疫反应的内源性激活剂,通过环状磷酸鸟苷-磷酸腺苷合成酶-干扰素刺激因子(cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes, cGAS-STING)或维甲酸诱导基因蛋白 I / 黑色素瘤分化相关蛋白 5-线粒体抗病毒信号蛋白(retinoic acid-inducible protein I / melanoma differentiation-associated protein 5-mitochondrial antiviral signaling protein, RIG-I / MDA5-MAVS)通路诱导 I 型 IFN 的产生,LINE-1 RNA 激活了 IFN β 介导的固有免疫反应,而后者反过来可以抑制 LINE-1^[17]。

综上所述,从最初发现至今,已有多种人类疾病

被归因于 LINE-1 介导的逆转座,因此对于调控 LINE-1 活性的研究十分关键^[29-30]。已经有一系列针对宿主抗病毒因子调控 LINE-1 活性的研究,如在 3'-修复核酸外切酶 1(three-prime repair exonuclease 1, TREX1)基因敲除细胞中,LINE-1 活性明显上调^[31];一种包含 SAM 和 HD 结构域的磷酸水解酶蛋白 1(SAM and HD domain-containing protein 1, SAMHD1)可通过抑制 LINE-1 ORF2p 的表达来抑制 LINE-1 逆转座^[32]。LINE-1 可激活和调控细胞的抗病毒天然免疫水平,随着对 LINE-1 活性和细胞 IFN 水平的进一步研究,不仅抗病毒因子抑制 LINE-1 活性,许多病毒表达的蛋白也参与 LINE-1 活性的调控。

2 人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)蛋白对 LINE-1 逆转座活性的影响

艾滋病(获得性免疫缺陷综合征, AIDS)被世界卫生组织定义为严重威胁人类健康的重要疾病之一,是由 HIV 感染导致^[33]。HIV 由 2 条长约 9 800 bp 完全相同的正义 RNA 单链构成,其结构除了位于 5' 和 3'-末端的 LTR 和编码结构蛋白的 *gag*、*pol*、*env* 基因外,还包含几个重叠的读码框,分别为 *tat*、*rev*、*nef*、*vif*、*vpr*、*vpu*(HIV-2 中的 *vpx*)。这些基因编码的蛋白对于 HIV 在体内的感染均是必不可少的,在对抗宿主天然免疫防御的过程中发挥重要作用^[34-35]。而 LINE-1 的逆转座却会激活天然免疫调节,以支持宿主的抗病毒机制。最近的研究发现,病毒感染会调节宿主细胞内源性 LINE-1 的逆转座水平^[36-37]。考虑到 LINE-1 的复制可激活细胞内 IFN 及后续抗病毒因子的表达,如果 HIV 编码的蛋白具有抑制 LINE-1 活性的功能,将是非常合理的。事实上,已经有不止一种 HIV 蛋白被证明是 LINE-1 调控因子。

2.1 HIV-1 Nef 对 LINE-1 逆转座活性的抑制作用

2.1.1 HIV-1 Nef 蛋白的功能 Nef 作为 HIV 蛋白之一,是大小约 27 kD 的豆蔻酰化的多功能蛋白,存在于细胞质和细胞膜上。此前,人们已知 Nef 蛋白至少可发挥 4 种功能:①下调细胞表面 CD4 蛋白水平;②下调细胞表面 I 型组织相容复合物(major histocompatibility class I, MHC-I)水平;③调控细胞信号传导及活化^[38];④介导一种抗病毒丝氨酸整合因子(serine incorporator, SERINC)家族蛋白的降解^[39]。通过这些功能,Nef 可显著提高 HIV 子代病毒的产量及对靶细胞的感染性^[40]。

2.1.2 HIV-1 Nef 通过两种机制间接抑制 LINE-1 活性 最新研究表明,Nef 还是一种有效的 LINE-1 逆转座

的抑制因子^[41]。且 Nef 介导的 LINE-1 调控似乎与上述 4 种功能无关。首先, Nef 可抑制 LINE-1 5'UTR 启动子的活性, 降低了 LINE-1 RNA 逆转录和随后 LINE-1 蛋白表达的效率。但 Nef 并不与 LINE-1 5'UTR 发生直接的接触。其次, Nef 的存在可显著影响 ORF1p 与 LINE-1 RNA 间的相互作用, 从而破坏 LINE-1 RNP 的形成或完整性, 达到抑制 LINE-1 活性的目的。然而, Nef 与 ORF1p 或 LINE-1 RNA 之间同样不存在结合的现象。表明 Nef 对启动子活性以及 RNP 稳定性的影响很可能并非特异性的靶向 LINE-1, 而是具有更广谱的作用。

研究还发现, Nef 蛋白序列上第二位的甘氨酸 (G2) 是其调控 LINE-1 活性所必须的氨基酸残基^[41]。G2 是 Nef 蛋白形成豆蔻酰化的必要残基, 而豆蔻酰化则可以将 Nef 蛋白插入细胞内的各种膜结构上, 改变 Nef 在细胞内的定位。值得注意的是, Nef 调控 LINE-1 活性的两种机制均需要 Nef 形成豆蔻酰化; 与之相符的是, G2A 突变可严重削弱 Nef 抑制 LINE-1 复制的能力, 同时 Nef G2A 突变体也不再能够有效抑制 LINE-1 刺激 IFN 产生的现象。结合上述结果, Nef 通过发生豆蔻酰化将自身定位在细胞内的膜结构上, 并通过间接机制抑制 LINE-1 5'UTR 的启动子活性并破坏 ORF1p 与 LINE-1 RNA 之间的相互作用, 最终实现调控 LINE-1 活性及 LINE-1 介导的固有免疫活化水平。

2.2 HIV-1 Vpr 对 LINE-1 逆转座活性的抑制作用

2.2.1 HIV-1 Vpr 蛋白功能 Vpr 是 HIV-1 中一种大小约 14 kD 的蛋白, 通过与 HIV 结构蛋白 Gag 相互作用被主动包装进病毒粒子。Vpr 通过不同途径作用来支持 HIV-1 的复制: 诱导共济失调毛细血管扩张突变基因 Rad3 相关激酶 (ataxia-telangiectasia and rRad3-related, ATR) 的 DNA 损伤反应 (DNA damage response, DDR), 从而导致细胞周期停滞在 G2 期, 进而促进病毒复制; 在 HIV-1 感染单核细胞衍生的树突状细胞 (monocyte-derived dendritic cells, MDDC) 和巨噬细胞的过程中, 如缺乏 Vpr, HIV-1 的复制则会减弱^[42]。

2.2.2 HIV-1 Vpr 抑制 LINE-1 逆转座 在之前的报道中, 观察到滞留于 G1、S、G2 或 M 期的细胞中 LINE-1 逆转座活性被抑制, 表明 LINE-1 逆转座需要在正常分裂的细胞中进行。在受阻细胞中, LINE-1 转录本的水平普遍显著减少, 转录抑制是 LINE-1 逆转座活性减小的主要原因^[43]。HIV-1 Vpr 会影响宿主细胞分裂, 使宿主细胞周期滞留在 G2 或 M 期。这似乎与观察到的 Vpr 抑制 LINE-1 复制的现象相吻合。研

究发现, HIV-1 Vpr 并不抑制 LINE-1 的转录过程, 证明 Vpr 是在 LINE-1 完成转录后才抑制其活性。表明虽然在停滞的细胞中 LINE-1 也可完成转录过程, 但完整的 LINE-1 逆转座需要在正常分裂的细胞中进行。该研究还发现, 独立于上述机制之外, Vpr 还可与 LINE-1 ORF2p 发生相互作用并抑制 ORF2p 的逆转录酶活性。与此同时, 与 ORF2p 的结合还使得 Vpr 借此附着在 LINE-1 RNP 上, 显著抑制 LINE-1 RNP 的功能, 进一步抑制 LINE-1 的逆转座活性^[44]。

2.3 HIV-2 Vpx 对逆转录元件 LINE-1 活性的促进作用

2.3.1 HIV-2 Vpx 蛋白功能 Vpx 最早发现发现于 1988 年, 是 HIV-2 和某些猴免疫缺陷病毒 (simian immunodeficiency virus, SIV) 所独有的^[45]。Vpx 通过拮抗宿主限制因子 SAMHD1 促进 HIV-2 在巨噬细胞、原代 CD4⁺ T 细胞和树突状细胞等免疫细胞中的复制, 并通过不断增加 HIV-2 逆转录产物 cDNA 的积累, 突破免疫细胞内专有的抗病毒防线^[46]。Vpx 还是一种天然免疫激活的抑制因子。STING 信号小体通过激活干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 或核因子活化 B 细胞 κ 轻链增强子 (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B) 来诱导各种天然免疫基因的表达, 而 Vpx 则可在多种类型的细胞中选择性地抑制 cGAS-STING 诱导的 NF- κ B 信号来抑制天然免疫水平^[47]。

2.3.2 HIV-2 Vpx 促进 LINE-1 逆转座活性 目前已有报道认为, Vpx 蛋白可促进 LINE-1 的逆转座活性^[48]。此前曾提到, Vpx 通过下调宿主 SAMHD1 蛋白的表达水平来协助 HIV-2 或 SIV 感染巨噬细胞等免疫细胞。作为抗病毒因子的 SAMHD1 同样具有调控 LINE-1 活性的能力。研究证实, SAMHD1 可通过下调 LINE-1 ORF2p 蛋白的表达水平, 破坏 LINE-1 RNP 的稳定性, 从而阻断 LINE-1 对基因组的剪切及逆转录过程^[32]。而通过介导 SAMHD1 蛋白的降解, Vpx 也消除了 SAMHD1 对 LINE-1 的抑制, 因此间接实现了对 LINE-1 活性的促进^[32]。

近期的研究表明, Vpx 还可能会通过破坏人类中心沉默复合物 (the human silencing hub, HUSH) 来促进 LINE-1 的逆转座。HUSH 复合物可选择性地与位于常染色质区域内具有复制活性的、全拷贝 LINE-1 相结合。随后, HUSH 可通过促进组蛋白 H3 发生 K9 位的三甲基化 (histone H3K9 trimethylation, H3K9-me3) 来沉默 LINE-1 的转录过程, 以此限制 LINE-1 的表达^[29]。与此同时, HUSH 还可抑制灵长类免疫缺陷病毒 (如 HIV-1、HIV-2 和 SIV) 的逆转录。而为了

支持病毒的复制, HIV-2 或 SIV 的 Vpx 作为接头蛋白通过与 DDB1 和 CUL4 相关因子 1-cullin4A / B(DDB1 and CUL4 associated factor 1-cullin4A / B, DCAF1-CUL4A / B)E3 泛素连接酶相结合的方式, 来降解 HUSH 复合物以增强病毒感染^[49-50]。表明对 HUSH 复合物的破坏很可能是 Vpx 促进 LINE-1 活性的另一种途径。已有研究显示, Vpx 的表达会导致内源性 LINE-1 ORF1p 表达增强^[48]。综上所述, HIV-2 Vpx 确实会促进 LINE-1 的活性。

3 HBV 蛋白对 LINE-1 活性的影响

3.1 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)与 LINE-1 HBV 感染是引起人类肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最常见的病因^[51]。有研究显示, LINE-1 在肝细胞癌中是一个重要的突变源, 可降低体细胞的肿瘤抑制能力^[52]。在此基础上可以推测, 如果 HBV 可改变 LINE-1 的生物学特性, 就可能促进 HBV 感染的肝细胞病变发展为肝细胞癌^[53]。

有研究发现, HBV 聚合酶(polymerase, Pol)在调节 LINE-1 逆转座方面具有新的功能与活性。HBV Pol 通过与 LINE-1 ORF1p 的相互作用和抑制 LINE-1 5'UTR 区域, 来显著抑制 LINE-1 逆转座^[54]。另外, 还有报道发现, 多种 HBV 蛋白均可参与调节 LINE-1 活性, 表明 LINE-1 在 HBV 介导的肝细胞癌发生中起到关键作用^[52, 55]。

3.2 HBx-L1 嵌合转录本 HBV 感染的一个关键点是将 HBV 序列整合至宿主基因组中, 这与肝细胞癌的发生、发展有直接关系。HBx 是 HBV 最重要的整合蛋白^[55], 同时与多种宿主因子在肿瘤相关的生物学途径中密切相关^[52]。流行病学研究表明, HBx 是 HBV 发挥作用的核心功能蛋白, 其在 HBV 感染的肝细胞病变发展成肝细胞癌的过程中起重要作用^[56-57]。最近的测序结果表明, HBV 对于人类基因组的插入并非随机, 其插入位点多位于 LINE-1 的重复非编码序列附近, 因此, 除直接调控 LINE-1 活性外, HBV 可能还会在其他方面与 LINE-1 存在某种关联, 而 HBx 极可能是形成这种关联的桥梁^[53]。

目前有报道发现, HBx 与 LINE-1 可在基因水平上发生融合。在 HBV 感染过程中, 其可将编码 HBx 的基因插入至染色体 8p11 上的 LINE-1 序列中, 产生的 HBx-LINE-1 嵌合转录本具有致癌性。在对 HBV 阳性的肝细胞癌细胞株测序时发现, 23.3% 的肝细胞癌细胞株中均可检测到 HBx-LINE-1 嵌合转录本^[52]。Wnt / β -Catenin 信号通路与肝细胞癌的发生

相关^[58]。HBx-LINE-1 嵌合转录本作为一种长非编码 RNA 发挥作用, 通过激活 Wnt / β -Catenin 信号通路来促进肝细胞癌的发展^[52]。

4 总结与展望

LINE-1 作为人体细胞中唯一已知具有复制活性, 可自主转座的逆转录元件, 不仅为基因组提供了进化的动力, 同时也由于其造成了基因组的不稳定性导致多种疾病的产生。LINE-1 对于免疫系统也具有重要意义, 其中对细胞的抗病毒天然免疫起到关键的激活、调控作用。本文主要阐述了 3 种 HIV 蛋白 Nef、Vpr 和 Vpx 对 LINE-1 逆转座活性的影响, 以及 LINE-1 与 HBV 蛋白 HBx 形成的特殊的 HBx-L1 嵌合转录本。

HIV-1 Nef 和 Vpr 对 LINE-1 逆转座活性起抑制作用。Nef 通过抑制 LINE-1 5'UTR 启动子的活性和影响 ORF1p 与 LINE-1 RNA 间的相互作用来达到抑制 LINE-1 活性的目的; Vpr 则通过诱导细胞周期停滞和抑制 ORF2p 介导的逆转录酶活性来抑制 LINE-1 逆转座。一方面, LINE-1 是激活宿主天然免疫的最基本单位, IFN 介导的抗病毒反应又是宿主抵抗病毒感染核心^[59]。IFN 能够诱导干扰素刺激基因(interferon-stimulated genes, ISGs)的表达, 产生多种有效的抗病毒限制因子抑制 HIV 复制。表明抑制 LINE-1 逆转座活性即为对细胞内 IFN 水平的抑制, 可以一定程度上帮助 HIV 逃避宿主天然免疫的防御。另一方面, 如果 LINE-1 将新的拷贝插入至整合在宿主基因组的 HIV-1 基因中或感染细胞生存所必需的基因中, 则可能导致 HIV-1 无法产生子代病毒或感染细胞被破坏。因此还可推测, 抑制 LINE-1 的逆转座活性相当于限制 LINE-1 新拷贝的插入, 以保护自己的基因组和感染细胞的基因组免受突变。综上所述, 抑制 LINE-1 逆转座活性对 HIV-1 的复制与传播起促进作用。

然而 HIV 的感染过程对 LINE-1 的活性并非是一个抑制的过程。相反, 此前有研究认为, HIV 的感染在总体上对 LINE-1 的逆转座是一个促进的作用^[60]。表明 HIV 对 LINE-1 活性的影响极可能是一种动态的过程, 同时存在促进和抑制的调控机制。Vpx 促进 LINE-1 活性的现象正是这一推论的具体体现。HIV-2 Vpx 通过下调病毒限制性因子 SAMHD1 和 HUSH 复合物来促进 LINE-1 逆转座。推测 HIV 的某个感染或复制步骤需要 LINE-1 的参与, 或者可以受到 LINE-1 的促进作用。对这一步骤及相关机制的解析有望提

供新的抗 HIV 药物的靶点,对于 HIV 的预防及治疗具有重要意义。

另外,本文还阐述了 HBV 抑制 LINE-1 逆转座活性,和 LINE-1 与 HBV 蛋白 HBx 相互作用的形式,即形成了特殊的 HBx-LINE-1 嵌合转录本。需要特别强调的是,HBx-LINE-1 无需被翻译成蛋白,仅以长非编码 RNA 的形式即可促进癌症的发展。虽然 HBx-LINE-1 嵌合转录本在肝细胞癌发生、发展中的确切作用方式尚需更详细的探究,但 LINE-1 的转录调控可能成为治疗 HBV 相关肝细胞癌的新突破口,为新的治疗方法开辟道路。

综上所述,病毒蛋白与 LINE-1 间的相互作用展现出了多种多样的生物学活性,其中有些会保护宿主抵御病毒的进一步感染,有些则会引起更严重的疾病。未来需要以对病毒蛋白调控 LINE-1 活性的机制进行更多更深入的研究,以消除其中的负面作用并增强正面的保护效果为目标,为针对相关感染和疾病的药物研发提供新的分子基础和作用靶点。

志谢 感谢 BioRender.com 提供的作图平台

参考文献

- [1] GOODIER J L. Restricting retrotransposons: a review [J]. *Mobile DNA*, 2016, 7: 16.
- [2] PAYER L M, BURNS K H. Transposable elements in human genetic disease [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2019, 20 (12): 760-772.
- [3] SIMON A J, ELLINGTON A D, FINKELSTEIN I J. Retrons and their applications in genome engineering [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47 (21): 11007-11019.
- [4] THOMPSON P J, MACFARLAN T S, LORINCZ M C. Long terminal repeats: From parasitic elements to building blocks of the transcriptional regulatory repertoire [J]. *Molecular Cell*, 2016, 62 (5): 766-776.
- [5] MA G, BABARINDE I A, ZHOU X M, *et al.* Transposable elements in pluripotent stem cells and human disease [J]. *Frontiers Genetics*, 2022, 13: 902541.
- [6] PLATT R N, VANDEWEGE M W, RAY D A. Mammalian transposable elements and their impacts on genome evolution [J]. *Chromosome Res*, 2018, 26 (1-2): 25-43.
- [7] MÉREL V, BOULESTEIX M, FABLET M, *et al.* Transposable elements in *Drosophila* [J]. *Mobile DNA*, 2020, 11: 23.
- [8] DROST H G, SANCHEZ D H. Becoming a selfish clan: Recombination associated to reverse-transcription in LTR retrotransposons [J]. *Genome Biol Evolution*, 2019, 11 (12): 3382-3392.
- [9] BODEA G O, MCKELVEY E G Z, FAULKNER G J. Retrotransposon-induced mosaicism in the neural genome [J]. *Open Biol*, 2018, 8 (7): 180074.
- [10] LUQMAN-FATAH A, MIYOSHI T. Human LINE-1 retrotransposons: impacts on the genome and regulation by host factors [J]. *Genes & Genetic Systems*, 2022. DOI: 10.1266/ggs.22-00038.
- [11] CHÉNAIS B. Transposable elements and human diseases: Mechanisms and implication in the response to environmental pollutants [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (5): 2551.
- [12] PENZKOFER T, JÄGER M, FIGLEROWICZ M, *et al.* L1Base 2: more retrotransposition-active LINE-1s, more mammalian genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45 (D1): D68-D73.
- [13] YAN J X, ZHAO Y F, DU J, *et al.* RNA sensor MDA5 suppresses LINE-1 retrotransposition by regulating the promoter activity of LINE-1 5'-UTR [J]. *Mobile DNA*, 2022, 13 (1): 10.
- [14] NAUFER M N, FURANO A V, WILLIAMS M C. Protein-nucleic acid interactions of LINE-1 ORF1p [J]. *Seminars Cell & Developmental Biol*, 2019, 86: 140-149.
- [15] FREEMAN B T, SOKOŁOWSKI M, ROY-ENGEL A M, *et al.* Identification of charged amino acids required for nuclear localization of human L1 ORF1 protein [J]. *Mobile DNA*, 2019, 10: 20.
- [16] BRIGGS E M, SPADAFORA C, LOGAN S K. A re-evaluation of LINE-1 ORF2 expression in LNCaP prostate cancer cells [J]. *Mobile DNA*, 2019, 10: 51.
- [17] ZHAO K, DU J, PENG Y F, *et al.* LINE1 contributes to autoimmunity through both RIG-I- and MDA5-mediated RNA sensing pathways [J]. *J Autoimmunity*, 2018, 90: 105-115.
- [18] SALVADOR-PALOMEQUE C, SANCHEZ-LUQUE F J, FORTUNA P R J, *et al.* Dynamic methylation of an L1 transduction family during reprogramming and neurodifferentiation [J]. *Mol Cell Biol*, 2019, 39 (7): e00499-18. DOI: 10.1128 / MCB.00499-18.
- [19] FLASCH D A, MACIA Á, SÁNCHEZ L, *et al.* Genome-wide de novo L1 retrotransposition connects endonuclease activity with replication [J]. *Cell*, 2019, 177 (4): 837-851, e28. DOI: 10.1016 / j.cell.2019.02.050.
- [20] ARIUMI Y, KAWANO K, YASUDA-INOUE M, *et al.* DNA repair protein Rad18 restricts LINE-1 mobility [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8 (1): 15894.
- [21] KAZAZIAN H H, WONG C, YOUSSEF H, *et al.* Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man [J]. *Nature*, 1988, 332 (6160): 164-166.
- [22] BRIGGS E M, HA S, MITA P, *et al.* Long interspersed nuclear element-1 expression and retrotransposition in prostate cancer cells [J]. *Mobile DNA*, 2018, 9: 1.
- [23] SCHAUER S N, CARREIRA P E, SHUKLA R, *et al.* L1 retrotransposition is a common feature of mammalian hepatocarcinogenesis [J]. *Genome Res*, 2018, 28 (5): 639-653.
- [24] LAVASANIFAR A, SHARP C N, KORTE E A, *et al.* Long interspersed nuclear element-1 mobilization as a target in cancer diagnostics, prognostics and therapeutics [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 493: 52-62.
- [25] KHALID M, BOJANG P, HASSANIN A A I, *et al.* Line-1: Implications in the etiology of cancer, clinical applications, and pharmacologic targets [J]. *Mutation Res Reviews Mutation Res*, 2018, 778: 51-60.
- [26] CHO Y H, JANG Y H, WOO H D, *et al.* LINE-1 hypomethylation is associated with radiation-induced genomic instability in industrial radiographers [J]. *Environmental Mol Mutagenesis*, 2019, 60 (2): 174-184.
- [27] SALEH A, MACIA A, MUOTRI A R. Transposable elements, inflammation, and neurological disease [J]. *Frontiers Neurol*, 2019, 10: 894.

- [28] MARASCA F, SINHA S, VADALÀ R, *et al.* LINE1 are spliced in non-canonical transcript variants to regulate T cell quiescence and exhaustion [J]. *Nature Genetics*, 2022, 54 (2): 180-193.
- [29] LIU N, LEE C H, SWIGUT T, *et al.* Selective silencing of euchromatic L1s revealed by genome - wide screens for L1 regulators [J]. *Nature*, 2018, 553 (7687): 228-232.
- [30] PEREIRA G C, SANCHEZ L, SCHAUGHENCY P M, *et al.* Properties of LINE-1 proteins and repeat element expression in the context of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Mobile DNA*, 2018, 9: 35.
- [31] STETSON D B, KO J S, HEIDMANN T, *et al.* Trex1 prevents cell-intrinsic initiation of autoimmunity [J]. *Cell*, 2008, 134 (4): 587-598.
- [32] ZHAO K, DU J, HAN X, *et al.* Modulation of LINE-1 and Alu / SVA retrotransposition by Aicardi -Goutières syndrome -related SAMHD1 [J]. *Cell Reports*, 2013, 4 (6): 1108-1115.
- [33] JIA X F, TAN Z M, ZHANG L J. Progress in research on side effect of cocktail therapy for AIDS [J]. *Chin J Biologicals*, 2019, 32 (8): 929-933. (in Chinese)
贾小芳, 谭智汨, 张丽军. 鸡尾酒疗法治疗艾滋病药物副作用的研究进展 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2019, 32 (8): 929-933.
- [34] ZHAO X, ZHAO Y F, DU J, *et al.* The interplay among HIV, LINE-1, and the interferon signaling system [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 732775.
- [35] DU J, ZHAO K. HIV suppressors against LINE-1: one functions as two [J]. *Critical Reviews Biochem Mol Biol*, 2021, 56 (3): 205-220.
- [36] NAKAYAMA R, UENO Y, UEDA K, *et al.* Latent infection with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus enhances retrotransposition of long interspersed element - 1 [J]. *Oncogene*, 2019, 38 (22): 4340-4351.
- [37] YIN Y, LIU X Z, HE X M, *et al.* Exogenous coronavirus interacts with endogenous retrotransposon in human cells [J]. *Frontiers Cell Infection Microbiol*, 2021, 11: 609160.
- [38] BASMACIOGULLARI S, PIZZATO M. The activity of Nef on HIV-1 infectivity [J]. *Frontiers Microbiol*, 2014, 5: 232.
- [39] USAMI Y, WU Y F, GÖTTLINGER H G. SERINC3 and SERINC5 restrict HIV-1 infectivity and are counteracted by Nef [J]. *Nature*, 2015, 526 (7572): 218-223.
- [40] SAXENA R, VEKARIYA U, TRIPATHI R. HIV-1 Nef and host proteome analysis: Current perspective [J]. *Life Sciences*, 2019, 219: 322-328.
- [41] WANG Y, ZHAO K, ZHAO Y F, *et al.* Nef suppresses LINE-1 retrotransposition through two distinct mechanisms [J]. *J Virol*, 2022, 96 (20): e0114822. DOI:10.1128 / jvi.01148-22.
- [42] NODDER S B, GUMMULURU S. Illuminating the role of Vpr in HIV infection of myeloid cells [J]. *Frontiers Immunol*, 2019, 10: 1606.
- [43] SHI X, SELUANOV A, GORBUNOVA V. Cell divisions are required for L1 retrotransposition [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27 (4): 1264-1270.
- [44] KAWANO K, DOUCET A J, UENO M, *et al.* HIV-1 Vpr and p21 restrict LINE-1 mobility [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46 (16): 8454-8470.
- [45] HENDERSON L E, SOWDER R C, COPELAND T D, *et al.* Isolation and characterization of a novel protein (X-ORF product) from SIV and HIV-2 [J]. *Science*, 1988, 241 (4862): 199-201.
- [46] DEUTSCHMANN J, GRAMBERG T. SAMHD1 ... and viral ways around it [J]. *Viruses*, 2021, 13 (3): 395.
- [47] SU J M, RUI Y J, LOU M, *et al.* HIV -2 / SIV Vpx targets a novel functional domain of STING to selectively inhibit cGAS - STING-mediated NF- κ B signalling [J]. *Nature Microbiol*, 2019, 4 (12): 2552-2564.
- [48] YURKOVETSKIY L, GUNAY M H, KIM K, *et al.* Primate immunodeficiency virus proteins Vpx and Vpr counteract transcriptional repression of proviruses by the HUSH complex [J]. *Nat Microbiol*, 2018, 3 (12): 1354-1361.
- [49] CHOUGUI G, MUNIR-MATLOOB S, MATKOVIC R, *et al.* HIV-2 / SIV viral protein X counteracts HUSH repressor complex [J]. *Nat Microbiol*, 2018, 3 (8): 891-897.
- [50] ROBBEZ-MASSON L, TIE C H C, CONDE L, *et al.* The HUSH complex cooperates with TRIM28 to repress young retrotransposons and new genes [J]. *Genome Res*, 2018, 28 (6): 836-845.
- [51] GHOURI Y A, MIAN I, ROWE J H. Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology, and carcinogenesis [J]. *J Carcinogenesis*, 2017, 16: 1.
- [52] HONDA T, RAHMAN M A. Profiling of LINE-1-related genes in hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (3): 645.
- [53] ANWAR S L, HASEMEIER B, SCHIPPER E, *et al.* LINE -1 hypomethylation in human hepatocellular carcinomas correlates with shorter overall survival and CIMP phenotype [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (5): e0216374. DOI:10.1371 / journal.pone.0216374.
- [54] ARIUMI Y. Hepatitis B virus polymerase restricts LINE-1 mobility [J]. *Gene*, 2023, 850: 146943.
- [55] LEE W Y, BACHTIAR M, CHOO C C S, *et al.* Comprehensive review of Hepatitis B Virus-associated hepatocellular carcinoma research through text mining and big data analytics [J]. *Biological Reviews Cambridge Philosophical Society*, 2019, 94 (2): 353-367.
- [56] ZHOU M Y, DU B, WU N, *et al.* Mechanism of hepatitis B virus X inducing hepatocellular carcinoma through Notch signaling pathway in a normal immune mouse model [J]. *J Third Military Med University*, 2021, 43 (10): 883-891. (in Chinese)
周梦瑶, 杜彬, 毋楠, 等. HBx通过Notch信号通路在正常免疫小鼠体内导致肝癌的作用机制 [J]. *第三军医大学学报*, 2021, 43 (10): 883-891.
- [57] WU N, ZHOU M Y, DU B, *et al.* Mechanism of hepatitis B virus X inducing hepatocellular carcinoma in mice through COX-2 and its downstream factors [J]. *J Third Military Med University*, 2021, 43 (10): 892-899. (in Chinese)
毋楠, 周梦瑶, 杜彬, 等. HBx通过COX-2及其下游因子诱导小鼠发生肝癌的机制研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2021, 43 (10): 892-899.
- [58] QUAN L X, WU L R, LI J. Regulation of Axin2 gene to expression of Wnt / β -catenin signaling pathway associated molecules in liver cancer cells and the relevant mechanism [J]. *Chin J Biologicals*, 2019, 32 (5): 512-516, 520. (in Chinese)
全柳霞, 吴立然, 李晶. Axin2基因对肝癌细胞中Wnt / β -catenin信号通路相关分子表达的调控及机制 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2019, 32 (5): 512-516, 520.
- [59] MESEV E V, LEDESMA R A, PLOSS A. Decoding type I and III interferon signalling during viral infection [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4 (6): 914-924.
- [60] JONES R B, SONG H, XU Y, *et al.* LINE-1 retrotransposable element DNA accumulates in HIV-1-infected cells [J]. *J Virol*, 2013, 87 (24): 13307-13320.