

• 综述 •

人巨细胞病毒感染与乳腺癌关系的研究进展

宫亚娅¹, 赵俊², 王明丽²

1. 安徽医科大学第一临床医学院, 合肥 230032; 2. 安徽医科大学微生物学教研室, 合肥 230032

摘要:人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是 β 疱疹病毒家族成员, 全世界70%以上人口感染过该病毒。HCMV通常以潜伏感染形式存在于宿主体内, 并产生了逃避宿主免疫系统识别和清除等多种能力, 可通过表达HCMV基因及蛋白发挥肿瘤调节作用, 干扰细胞代谢过程, 促进肿瘤的发生和发展。乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 而HCMV在非肿瘤和乳腺癌患者乳腺上皮细胞中的阳性检出率较高, 同时有研究表明晚期暴露于HCMV可引起乳腺癌。近期新型抗HCMV药物对乳腺癌靶向治疗的临床有效性也再次提示, HCMV可能与乳腺癌的发生和发展密切相关。本文主要综述了HCMV的致癌潜能及其与乳腺癌发生和发展的潜在关联。

关键词:免疫逃避; 致癌潜能; 乳腺癌

The oncogenic potential of human cytomegalovirus in breast cancer

GONG Yaya¹, ZHAO Jun², WANG Mingli²

1. *The First Clinical Medical College of Anhui Medical University, Hefei 230032, China*; 2. *Department of Microbiology, Anhui Medical University, Hefei 230032, China*

Abstract: Human cytomegalovirus (HCMV) is a common human pathogen infecting more than 70% of the world's population. The virus has developed mechanisms to evade the host's immune systems and it usually remains latent in its host. The expressed HCMV proteins have the potential to interfere with cell metabolism and promote the development of tumors. The detection rate of HCMV is relatively high in both non-neoplastic and neoplastic breast epithelium in patients with breast cancer. Meanwhile, published studies indicate that exposure to the virus in later development stages can cause breast cancer. Recent progress on new anti-HCMV targeted therapy for breast cancer also indicates that HCMV is likely involved in the progression of breast cancer. In this review, we will discuss the oncogenic potential of HCMV and the potential association of HCMV with the initiation and progression of breast cancer.

Key words: Immune evasion; Oncogenic potential; Breast cancer

乳腺癌是女性最常见恶性肿瘤之一, 也是女性癌症死亡的主要原因。临床观察发现, 绝大多数乳腺肿瘤为恶性, 起源于乳腺中形成乳汁的导管上皮细胞和小叶细胞。一些公认的乳腺癌风险因素已确

定, 包括年龄、性别、长时间暴露于雌激素及有乳腺癌家族史, 但50%~80%乳腺癌患者不存在以上危险因素。最近研究发现, 与乳腺癌发生和发展的主要相关因素为病毒感染, 如已知的小鼠乳腺肿瘤病

基金项目: 国家自然科学基金(30872253), 安徽高校省级自然科学研究项目(KJ2012ZD08)

通信作者: 王明丽

Corresponding author. WANG Mingli, E-mail: 1952987441@qq.com

毒(mouse mammary tumor virus, MMTV)、人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)、近期有研究证据的人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)等。HCMV为 β 疱疹病毒成员,可在个体之间通过所有体液(如唾液、乳汁、精液、血液等)及移植的骨髓和实体器官传播或转移。母乳是HCMV的主要传播途径,且HCMV在乳房上皮细胞中可持续感染和(或)反复再激活。研究显示,HCMV基因产物可异常调节细胞周期进程,引起DNA突变、阻碍凋亡、抑制免疫应答和肿瘤抑制性蛋白的功能。已在乳腺导管内原位癌和浸润性导管癌组织中检测到HCMV蛋白和DNA,越来越多的证据表明HCMV与乳腺癌的发生和发展有潜在联系。

1 HCMV 参与免疫调节

人群中HCMV感染广泛。在大多数人中,HCMV通常以潜伏感染(即无临床表现)的形式一直存在于宿主体内,被感染者呈终身带毒状态。研究表明,HCMV感染可通过诱导炎性细胞因子和生长因子分泌而促进癌变。同时,为与宿主共存,HCMV产生了一系列免疫逃逸机制,旨在逃避免疫系统识别,并利用其特异性免疫功能稳固自身及传播。据此推断,HCMV可能有助于肿瘤细胞发生免疫逃逸,以阻止活化的自然杀伤细胞(nature killer, NK细胞)和T细胞杀死肿瘤细胞。有研究显示,HCMV感染单核-巨噬细胞、成纤维细胞和内皮细胞时,可构成肿瘤微环境,其中HCMV调控免疫细胞和细胞重编程的作用更能促进肿瘤发展。例如,HCMV感染肿瘤相关成纤维细胞时,通过刺激核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)信号通路,分泌炎性细胞因子^[1]。感染HCMV的内皮细胞可分泌包括白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、巨噬细胞炎性蛋白1(macrophage inflammatory protein 1, MIP-1)、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)等细胞因子和趋化因子,从而促进致癌^[2]。

HCMV感染可降低未成熟树突细胞表面主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)I类和II类分子表达水平,改变树突细胞中模式细胞因子分泌,抑制其免疫能力,并降

低其刺激细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)对其他病毒的应答能力。此外,HCMV编码的IL-10(cmvIL-10)由感染细胞产生,可抑制树突细胞和单核细胞功能,损害其激活T细胞的能力。这种由病毒引起的抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)麻痹,延缓和干扰了病毒特异性T细胞克隆的产生。HCMV还可干扰抗原呈递的多个步骤。HCMV可编码自身Fc同源受体,如UL36、UL37和UL38,这些Fc受体可通过覆盖感染细胞表面与IgG抗体结合的部位,抑制特异性抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)^[3]。

2 HCMV 相关蛋白的致癌潜能

随着对HCMV相关蛋白代谢与功能的研究,有研究者提出肿瘤调控(oncomodulation)这一概念,用以描述HCMV在肿瘤发生和发展中的作用,指出HCMV具有影响肿瘤细胞生物学性状的能力,并能促进致癌过程,为肿瘤细胞提供适当的遗传环境^[4]。其特征在于,HCMV可通过异常调节多种细胞转化,扰乱细胞内信号通路,产生相应转录因子和肿瘤抑制蛋白,控制正常生理过程中的细胞循环,从而发挥肿瘤调控潜能,促进恶性肿瘤发展。HCMV也可能参与细胞诱变、细胞侵袭和宿主免疫系统的调节,通过表达蛋白而呈现肿瘤调节物性能,干扰细胞代谢过程,促进肿瘤发生和发展^[5]。

HCMV在复制周期的早期可表达多种病毒特征性即刻早期(immediate early, IE)蛋白,IE蛋白对病毒和细胞的基因表达具有重要调控作用。有研究显示,IE1和IE2蛋白有多种功能,可通过影响死亡受体信号通路阻止细胞凋亡;其在细胞蛋白表达中有致突变性,以“打了就跑”(hit and run)的机制发挥作用,诱导细胞转化^[6]。最近研究发现,HCMV IE1在hTERT启动子位点上与SP1结合并诱导端粒酶活性增高,是引发肿瘤转化的重要因素^[7]。HCMV IE2可与p53肿瘤抑制蛋白和Rb蛋白相互作用,调节其活性。p53基因是最经常突变的基因,其失活在癌症的发生和发展中起关键作用。此外,HCMV UL36基因编码的蛋白pUL36可中断Fas介导的细胞凋亡途径或抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶8(cysteinyl aspartate specific proteinase 8, caspase-8)活化,从而抑制细胞凋亡^[8]。

HCMV在复制周期的后期表达的结构蛋白主要用于形成病毒颗粒,主要包括pp65、pp71、

pp150、gB、gH、gL 等。它们是病毒衣壳和包膜的主要组成部分,在 HCMV 基因表达、免疫逃避、组装和释放过程中发挥关键作用^[9]。此外,HCMV 基因产物可进一步以肿瘤调节物的方式,通过阻碍细胞分化,诱导染色体不稳定、DNA 突变、细胞迁移和血管生成等发挥作用^[10]。

3 HCMV 与乳腺癌的潜在相关性

研究表明,HCMV 与慢性炎症疾病和癌症的发生和发展有关,由此推测晚期暴露于 HCMV(成年后,而不是童年)可促进乳腺癌发生。HCMV 可在乳汁中检出,也提示其可持续感染乳腺上皮细胞。

Harkins 等^[11]用敏感度较高的免疫组化和原位杂交技术分析非肿瘤乳腺组织和乳腺癌乳腺组织,均检测到 HCMV 抗原和核酸,首次证明 HCMV 持续感染水平在非肿瘤乳腺组织中较高。此外,HCMV 在非肿瘤和乳腺癌患者乳腺上皮细胞中的阳性检出率也较高。

Cox 等^[12]发现,女性乳腺癌患者中较高的 HCMV 特异性 IgG 水平可能是近期感染 HCMV 的结果,提示晚期暴露于 HCMV 是乳腺癌的危险因素。该研究表明,某些女性 HCMV IgG 水平升高与乳腺癌发展显著相关。但该研究有一定的局限性,其是回顾性分析,且只针对 0~40 岁的女性。

炎性乳腺癌(inflammatory breast cancer, IBC)是一种具有高度转移性、攻击性和致命性的乳腺癌,临床特征是有大量腋窝淋巴结转移。Mohamed 等^[13]检测非 IBC 与 IBC 患者癌组织的 HCMV 基因型,评估 HCMV 混合基因型感染与疾病进展的相关性。结果表明,与其他乳腺癌组织相比,IBC 癌组织含有更高水平的 HCMV DNA。他们还发现,不同 HCMV 基因型的混合感染与 IBC 淋巴管浸润和形成真皮淋巴栓塞显著相关,但在非 IBC 患者中无此现象。

4 新型抗 HCMV 药物对乳腺癌的靶向治疗

鉴于多种癌组织中存在 HCMV 感染,临幊上有必要考虑使用靶向癌细胞的抗 HCMV 药物。在乳腺癌 HCMV 感染研究中,发现被激活的几种常见信号途径,如 STAT3、磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)、NF-κB、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)及 Wnt 信号。因此,药物靶向这些途径可能对 HCMV 感染所致肿瘤的病理进展产生

明显影响。目前已有几种化合物在临幊前或临幊试验阶段显示对癌症发展有显著影响。经美国食品药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的药物索拉非尼是一个多激酶抑制剂,可影响某些信号通路。体外实验证实,索拉非尼能抑制 HCMV 在多种细胞中增殖。此外,在涉及人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)阴性乳腺癌患者的Ⅱ期临幊试验中,索拉非尼和卡培他滨组合可改善病情,抑制癌症进展。HER2 基因被认为是乳腺癌的致癌基因。目前,减少索拉非尼剂量的Ⅲ期临幊试验(Clinicaltrials.gov, NCT01234337)已启动^[14-15]。

磷酸化的 STAT3 二聚体积累在细胞核,参与炎症,促进血管生成,并异常调节基因表达。研究表明,HCMV 可迅速促进 STAT3 的核定位^[16]。Lin 等^[17]设计并命名了两种姜黄素来源的抑制剂 FLLL31 和 FLLL32,它们可特异性结合 STAT3 的两个酪氨酸同源体(Src homology 2),使其失去功能;而 Src 是 STAT3 二聚体化和下游信号转导必不可少的中间因子。体外研究显示,这些抑制剂在乳腺癌细胞系可抑制 STAT3 活化、细胞浸润和集落形成。近期该研究组还开发了另一种被称为 BP-1-102d 的 STAT3 抑制剂,可抑制异种移植物中乳腺癌细胞的生长^[18]。

某些 HCMV 高感染率的肿瘤(如结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌等)与慢性持续性炎症有关,特别是环氧化酶 2(cyclooxygenase 2, COX-2)在这些癌症的发生和发展过程中大量表达,而这种过表达通常与疾病严重程度和不良预后有关。COX-2 可刺激血管生成,阻止细胞凋亡,还可能干扰 DNA 转录因子结合,引起了研究者对非甾体类抗炎药物(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)可能是防癌药的兴趣。已有临床研究提供了令人鼓舞的证据,即 NSAID 对结肠癌、乳腺癌、前列腺癌和肺癌均有预防作用^[19]。研究表明,HCMV 感染可诱导 COX-2 的体内表达,而 COX-2 抑制剂可阻断 HCMV 复制^[20]。阿司匹林和水杨酸钠可抑制 HCMV 诱导的 NF-κB 激活,抑制 IE72 激活启动子的能力,从而发挥抗病毒作用^[21]。因此,深入探讨 HCMV 与 COX-2 的可能联系及 NSAID 预防癌症的能力,有助于进一步阐明 HCMV 在癌变中所扮演的角色。

5 结语

有临幊和实验研究表明,包括乳腺癌在内的多

种恶性肿瘤的发生和发展均有 HCMV 参与,但人们对乳腺癌组织中 HCMV 高感染率知之甚少。无论其只是一个偶然现象,或是癌症发展中的关键因子,均需进一步研究。如果 HCMV 感染是关键的,那么详细了解该病毒在宿主维持复制和增殖的能力及其潜伏再激活的不同机制,深入探讨其致癌因素,将为开辟新的治疗策略奠定基础。

参考文献

- [1] Herbein G, Kumar A. The oncogenic potential of human cytomegalovirus and breast cancer [J]. *Front Oncol*, 2014, 4: 230.
- [2] Dumortier J, Streblow DN, Moses AV, Jacobs JM, Kreklywich CN, Camp D, Smith RD, Orloff SL, Nelson JA. Human cytomegalovirus secretome contains factors that induce angiogenesis and wound healing [J]. *J Virol*, 2008, 82(13): 6524-6535.
- [3] Valle Oseguera CA, Spencer JV. cmvIL-10 stimulates the invasive potential of MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88708.
- [4] Cinatl J Jr, Vogel JU, Kotchetkov R, Wilhelm Doerr H. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2004, 28(1): 59-77.
- [5] Michaelis M, Doerr HW, Cinatl J. The story of human cytomegalovirus and cancer: increasing evidence and open questions [J]. *Neoplasia*, 2009, 11(1): 1-9.
- [6] Shen Y, Zhu H, Shenk T. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins are mutagenic and mediate “hit-and-run” oncogenic transformation in cooperation with the adenovirus E1A proteins [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(7): 3341-3345.
- [7] Straät K, Liu C, Rahbar A, Zhu Q, Liu L, Wolmer-Solberg N, Lou F, Liu Z, Shen J, Jia J, Kyo S, Björkholm M, Sjöberg J, Söderberg-Nauclér C, Xu D. Activation of telomerase by human cytomegalovirus [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(7): 488-497.
- [8] Goldmacher VS, Bartle LM, Skaletskaya A, Dionne CA, Kedersha NL, Vater CA, Han JW, Lutz RJ, Watanabe S, Cahir McFarland ED, Kieff ED, Mocarski ES, Chittenden T. A cytomegalovirus-encoded mitochondria-localized inhibitor of apoptosis structurally unrelated to Bcl-2 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(22): 12536-12541.
- [9] Kalejta RF. Tegument proteins of human cytomegalovirus [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2008, 72(2): 249-265.
- [10] Soroceanu L, Cobbs CS. Is HCMV a tumor promoter? [J]. *Virus Res*, 2011, 157(2): 193-203.
- [11] Harkins LE, Matlaf LA, Soroceanu L, Klemm K, Britt WJ, Wang W, Bland KI, Cobbs CS. Detection of human cytomegalovirus in normal and neoplastic breast epithelium [J]. *Herpesviridae*, 2010, 1(1): 8.
- [12] Cox B, Richardson A, Graham P, Gislevoss RE, Jellum E, Rollag H. Breast cancer, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus: a nested case-control study [J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(11): 1665-1669.
- [13] Mohamed HT, El-Shinawi M, Nouh MA, Bashtar AR, Elsayed ET, Schneider RJ, Mohamed MM. Inflammatory breast cancer: high incidence of detection of mixed human cytomegalovirus genotypes associated with disease pathogenesis [J]. *Front Oncol*, 2014, 4: 246.
- [14] Baselga J, Segalla JG, Roché H, Del Giglio A, Pinczowski H, Ciruelos EM, Filho SC, Gómez P, Van Eyll B, Bermejo B, Llombart A, Garicochea B, Durán MÁ, Hoff PM, Espí M, de Moraes AA, Ribeiro RA, Mathias C, Gil Gil M, Ojeda B, Morales J, Kwon Ro S, Li S, Costa F. Sorafenib in combination with capecitabine: an oral regimen for patients with HER2-negative locally advanced or metastatic breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(13): 1484-1491.
- [15] Baselga J, Costa F, Gomez H, Hudis CA, Rapoport B, Roche H, Schwartzberg LS, Petrenciu O, Shan M, Gradishar WJ. A phase 3 trial comparing capecitabine in combination with sorafenib or placebo for treatment of locally advanced or metastatic HER2-negative breast cancer (the resilience study): study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials*, 2013, 14: 228.
- [16] Reitsma JM, Sato H, Nevels M, Terhune SS, Paulus C. Human cytomegalovirus IE1 protein disrupts interleukin-6 signaling by sequestering Stat3 in the nucleus [J]. *J Virol*, 2013, 87(19): 10763-10776.
- [17] Lin L, Hutzen B, Zuo M, Ball S, Deangelis S, Foust E, Pandit B, Ihnat MA, Shenoy SS, Kulp S, Li PK, Li C, Fuchs J, Lin J. Novel Stat3 phosphorylation inhibitors exhibit potent growth-suppressive activity in pancreatic and breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (6): 2445-2454.
- [18] Zhang X, Yue P, Page BD, Li T, Zhao W, Namanja AT, Paladino D, Zhao J, Chen Y, Gunning PT, Turkson J. Orally bioavailable small-molecule inhibitor of transcription factor Stat3 regresses human breast and lung cancer xenografts [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(24): 9623-9628.
- [19] Pereg D, Lishner M. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for the prevention and treatment of cancer [J]. *J Intern Med*, 2005, 258(2): 115-123.
- [20] Zhu H, Cong JP, Yu D, Bresnahan WA, Shenk TE. Inhibition of cyclooxygenase 2 blocks human cytomegalovirus replication [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (6): 3932-3937.
- [21] Speir E, Yu ZX, Ferrans VJ, Huang ES, Epstein SE. Aspirin attenuates cytomegalovirus infectivity and gene expression mediated by cyclooxygenase-2 in coronary artery smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 1998, 83(2): 210-216.

(收稿日期:2015-07-29)