



## 新城疫病毒抗肿瘤效应机制的研究现状

陈琳琳, 兰金苹, 刘开扬\*

河北北方学院生命科学研究中心, 河北 张家口 075000

陈琳琳, 兰金苹, 刘开扬. 新城疫病毒抗肿瘤效应机制的研究现状. 微生物学报, 2022, 62(8): 2905–2915.

Chen Linlin, Lan Jinping, Liu Kaiyang. Anti-tumor mechanism of Newcastle disease virus: a review. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(8): 2905–2915.

**摘要:** 溶瘤病毒疗法是一种重要的抗癌手段。经研究, 新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)是一种非常有效的溶瘤病毒(oncolytic virus, OV), 它能选择性杀伤肿瘤细胞, 对正常细胞几乎无影响。本文从 NDV 诱导肿瘤细胞发生凋亡、自噬、抑制细胞代谢、刺激机体免疫反应和诱导肿瘤细胞发生核糖体应激反应等方面综述了新城疫病毒的抗肿瘤效应机制, 并着重探讨了 NDV 通过诱导核糖体压力应激反应调控肿瘤细胞翻译系统并诱导细胞发生凋亡的具体机制, 旨在为今后 NDV 抗肿瘤作用的深入研究及靶向治疗癌症提供更加扎实丰富的理论基础。

**关键词:** 新城疫病毒; 核糖体; 应激; 蛋白翻译

## Anti-tumor mechanism of Newcastle disease virus: a review

CHEN Linlin, LAN Jinping, LIU Kaiyang\*

Life Science Research Center of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

**Abstract:** Oncolytic virus (OV) therapy is an important anticancer means. Newcastle disease virus (NDV) displays effective oncolytic activity in many tumor types, which kills tumor cells in a selective way without being toxic to normal cells. In this paper, we reviewed the anti-tumor mechanisms of NDV

**基金项目:** 河北省自然科学基金(H2018405044); 河北省高等学校科学技术研究项目(QN2020247); 张家口市应用基础研究和人才培养计划(1911038A)

Supported by the Hebei Natural Science Foundation Project (H2018405044), by the Science and Technology Research Project of Hebei Higher Education Institutions (QN2020247) and by the Science and Technology Research Project of Zhangjiakou (1911038A)

\*Corresponding author. E-mail: kaiyang1999@126.com

Received: 7 December 2021; Revised: 27 February 2022; Published online: 11 March 2022

from the aspects of inducing apoptosis and autophagy of tumor cells, inhibiting cell metabolism, stimulating immune response, and triggering ribosomal stress response in tumor cells, particularly the specific mechanism of inducing ribosomal stress response to regulate the translation system of tumor cells and trigger cell apoptosis. This review is expected to lay a solid theoretical foundation for in-depth research on the anti-tumor effect of NDV and targeted therapy of cancer in the future.

**Keywords:** Newcastle disease virus; ribosome; stress; protein translation

癌症是当前世界范围内导致死亡最主要的原因之一,近年来,随着医药科技的不断发展,各种放、化疗药物不断涌入市场,但都不能从根本上治疗癌症<sup>[1]</sup>,而溶瘤病毒疗法成为目前治疗癌症的新选择。新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)于1926年在全球首次被发现,属于副粘病毒科、禽腮腺炎病毒属,其减毒疫苗株作为重要的溶瘤病毒治疗肿瘤<sup>[2]</sup>。NDV在引起肿瘤细胞发生应激反应的同时,核糖体合成受阻或功能受到抑制而导致细胞内稳态受到破坏,进而抑制细胞蛋白翻译,促进病毒蛋白表达<sup>[3]</sup>。因此,了解NDV对核糖体翻译系统的调控有助于人们对其抗肿瘤机制的研究,为今后溶瘤病毒疗法治疗癌症提供更加扎实丰富的理论基础。本文从NDV诱导肿瘤细胞发生凋亡、自噬、抑制细胞代谢、刺激机体免疫反应、诱导肿瘤细胞发生核糖体应激反应等方面阐述了NDV抗肿瘤作用机制的最新研究进展。

## 1 NDV的溶瘤机制

### 1.1 NDV诱导肿瘤细胞发生凋亡

NDV是一种有效的溶瘤病毒,它能够选择性杀伤肿瘤细胞从而发挥抗肿瘤作用。NDV主要通过外源性和内源性2种途径来诱导肿瘤细胞发生凋亡。NDV感染肿瘤细胞后可诱导外周单个核细胞释放IFN- $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 等抗肿瘤效应分子,激活NF- $\kappa$ B信号通路,导致肿瘤细胞凋亡,触发外源性途径诱导细胞凋亡<sup>[4]</sup>。

NDV感染HeLa细胞后,NF- $\kappa$ B通路的激活和TNF- $\alpha$ /TRAIL的上调导致caspase 8激活,Bid裂解为tBid,将凋亡信号途径传递到线粒体并介导内源性细胞凋亡。另一方面,RIP1被证实为NDV感染期间调节细胞凋亡和坏死性凋亡的中心信号蛋白,RIP1不仅在D324被caspase 8裂解为RIP1-N和RIP1-C促进细胞凋亡,而且能通过RIP1向应激颗粒(stress granules, SGs)募集磷酸化MLKL来破坏宿主防御性坏死性凋亡<sup>[5]</sup>。刘开扬等研究证实,NDV F3株通过抑制HER2表达促进胃癌细胞发生凋亡,同时引起线粒体应激,导致结构被破坏,Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活性降低,线粒体膜电位及细胞色素C显著下降<sup>[6-7]</sup>。

### 1.2 NDV诱导肿瘤细胞发生自噬

细胞自噬是细胞自我降解的过程。NDV感染肿瘤细胞早期,自噬反应有益于其复制和存活,但在感染后期能够诱导肿瘤细胞大量死亡。该现象说明自噬可以进一步增强NDV的抗肿瘤作用。NDV感染细胞后,P62依赖性线粒体自噬过程的诱导,导致NDV感染时受损线粒体的消除、细胞色素C释放减少,从而抑制肿瘤细胞的过早消除<sup>[8]</sup>。IRE1-JNK信号通路起到内质网应激开关的重要作用。Bu等发现重组新城疫病毒LaSota株表达的狂犬病毒糖蛋白(RL-RVG)从ATF-6通路、肌醇需要酶1(IRE1)、PKR-like内质网蛋白激酶(PERK)等方面诱导胃癌细胞自噬和凋亡<sup>[9]</sup>。Yan等利用重组NDV

( $\text{rl-IFN-}\lambda 1$ )感染胃癌细胞,发现其能够激活内质网,诱导细胞凋亡和自噬<sup>[10]</sup>。

### 1.3 NDV 通过抑制细胞代谢杀伤肿瘤细胞

肿瘤细胞的新陈代谢依赖于糖酵解,即使是在有氧条件下,肿瘤细胞仍继续依赖糖酵解而不是氧化磷酸化,这需要大量葡萄糖来产生能量并支持代谢功能(即 Warburg 效应)。因此,靶向肿瘤细胞代谢是抑制肿瘤细胞进展的一种有前景的策略。Al-Shammari 等研究发现,将 2-脱氧葡萄糖(2-DG)和 NDV 联合使用,通过抑制糖酵解和 GAPDH 降低来有效抗击乳腺癌<sup>[11]</sup>。Al-Ziaydi 等使用 D-甘露庚酮糖(一种特定的己糖激酶抑制剂)能抑制糖酵解以增强新城疫病毒的抗肿瘤作用,其中对糖酵解的产物、丙酮酸、ATP 和酸度明显抑制<sup>[12]</sup>。

### 1.4 NDV 刺激肿瘤细胞发生免疫反应

NDV 作为一种免疫原性物质,诱导细胞产生干扰素和白细胞介素等多种细胞因子,激活肿瘤微环境的免疫反应状态,提高机体免疫应答,抑制肿瘤细胞增殖<sup>[13]</sup>。McAusland 等发现硫酸氧钒与 NDV 联用时显著增加了肿瘤微环境中的 NK 细胞的数量和激活状态<sup>[14]</sup>。另外,含有感染 NDV 的肿瘤细胞裂解物的树突状细胞通过促进 T 细胞增殖并分泌 IFN- $\gamma$  和 IL-2 触发有效的抗肿瘤免疫反应<sup>[15]</sup>。Schwaiger 等发现,NDV 通过激活 NK 细胞和 T 细胞特异性抗肿瘤免疫反应,发挥细胞毒作用以抑制胰腺癌<sup>[16]</sup>。与此同时,NDV 还能够诱导细胞免疫原性死亡(ICD),释放危险相关分子(DAMP),从而抑制肿瘤增殖<sup>[17]</sup>。NDV 预先存在的免疫力同样也可以增强其抗肿瘤效果<sup>[18]</sup>。NDV 与检查点抑制剂(PD1 或 CTLA4 靶向单克隆抗体)相结合时,能在黑色素瘤小鼠模型中产生更好的完全肿瘤消退率和远隔效应,是一种更有效的抗肿瘤手段<sup>[19]</sup>。

## 2 NDV 诱导肿瘤细胞核糖体发生应激反应

核糖体在受到外界因素(病毒感染、化疗药物放线菌素 D、紫外照射、低氧和饥饿)刺激时,细胞内核糖体合成受阻或功能受到抑制而导致细胞内稳态受到破坏,这种情况称为核糖体应激。表现为:核仁体积变小;RNA 聚合酶介导的 rRNA 合成受抑;核糖体应激相关的核仁定位蛋白从核仁转移到核质或胞质;细胞周期受阻<sup>[20-21]</sup>。近年来,病毒感染能引起非膜性细胞器-核糖体发生应激,已经成为研究热点,从此角度去治疗癌症已成为一种前景性治疗方法。NDV 通过 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP 信号通路诱导 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞周期停滞,从而使 NDV 增殖<sup>[22]</sup>。NDV 感染细胞后激活 PEKR/eIF2 $\alpha$  级联反应并抑制宿主细胞的蛋白翻译,病毒蛋白 NP 水平升高,NP 在 G<sub>1</sub> 期同步细胞中表达水平高于 G<sub>0</sub> 期、G<sub>2</sub> 期或 M 期同步细胞,这一结果表明细胞周期的 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期可能有利于病毒复制。另外,CHOP 蛋白过表达导致细胞周期蛋白 cyclin D<sub>1</sub> 表达显著降低,CHOP 蛋白敲除导致细胞周期蛋白 cyclin E 降低,二者的下游分子 Rb 蛋白磷酸化大量减少,从而抑制细胞周期从 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期过渡到 S 期的进程,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞升高。以上结果均证实 NDV 诱导核糖体发生应激反应。

## 3 NDV 诱导肿瘤细胞核糖体应激机制

### 3.1 NDV 诱导宿主细胞形成经典应激颗粒以促进病毒复制

#### 3.1.1 SGs 的形成机制

当真核细胞受到热休克、氧化性应激、亚硝酸盐或病毒感染等外界环境刺激时,能够迅速终止蛋白翻译,导致多聚核糖体解离,

在细胞中形成的致密颗粒聚集体即为 SGs<sup>[23]</sup>。Gaete-Argel 等证实, 亚硝酸盐促进 SGs 的组装, 以响应氧化应激和 DNA 损伤, 揭示了由核应激颗粒组装介导的细胞应激的机制<sup>[24]</sup>。SGs 通常包含 40S 核糖体亚基、翻译因子起始集 (eIF2、2B、3、4A、4E、4G) 和 RNA 结合蛋白, 如 T 细胞胞内抗原-1 (T-cell intracellular antigen 1, TIA-1)、TIA-1 相关蛋白 (TIA1-related protein, TIAR)、Ras-GTP SH3 区域结合蛋白 (G3BP)<sup>[25]</sup>。TIA-1、TIAR 和 G3BP 经常在细胞核周围呈点状聚集, 因此把这 3 个蛋白看作是 SGs 形成的标志<sup>[26]</sup>。

根据 SGs 的形成条件将 SGs 的形成机制分为 2 种: 真核翻译起始因子 2 $\alpha$  (eukaryotic initiation factor 2 $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ ) 依赖型和非依赖型。在 eIF2 $\alpha$  依赖型中, 蛋白激酶 R (protein kinase R, PKR)、细胞内的 PKR 样内质网激酶 (PKR-like endoplasmic reticulum kinase, PKER)、蛋白激酶 (general control non repressed 2, GCN2) 和血红素调节抑制激酶 (heme-regulated inhibitor kinase, HRI) 4 种蛋白激酶在受到不同的外界刺激后被相应激活, 激活后磷酸化 eIF2 $\alpha$ , 降低 eIF2 $\alpha$ /GTP/tRNA<sup>iMet</sup> 三元复合物的可用性和形成, 促进 SGs 形成<sup>[27-28]</sup>。Blázquez 等研究发现, 乌苏图病毒 (Usutu virus, USUV) 感染逃避了细胞应激反应, 从而削弱了用 HRI 激活剂 ArsNa 治疗诱导的 eIF2 $\alpha$  磷酸化和 SGs 组装<sup>[29]</sup>。此外, eIF2 $\alpha$  导致 G3BP1 去磷酸化, 使 G3BP1 多聚化后形成 SGs<sup>[30-31]</sup>。另一种非依赖 eIF2 $\alpha$  的机制中, 通过抑制真核翻译起始因子 eIF4A、eIF4G 和 eIF4E 使翻译受抑, 翻译起始因子受抑失活后可直接诱导 SGs 形成, 该过程与 eIF2 $\alpha$  无关<sup>[32]</sup>。

### 3.1.2 病毒反馈调节 SGs 形成

SGs 可影响病毒复制过程, 而病毒亦可通

过与 SGs 蛋白组分的相互作用, 反馈调节 SGs 的形成, 主要有 3 种机制: 病毒对 PKR-eIF2 $\alpha$  通路的调控, 如呼吸道合胞病毒 (单股负链 RNA 病毒) 感染宿主细胞后诱导 eIF2 $\alpha$  磷酸化, 进而形成 SGs<sup>[33]</sup>; 病毒对 SGs 核心蛋白的“挟持”<sup>[34]</sup>; 病毒对 SGs 组分的切割, 如脊髓灰质炎病毒在感染早期, 通过破坏 eIF4F 复合物来诱导 SGs 的形成, 并且该过程依赖于宿主的转录, 在感染后期, 该病毒能降解与 SGs 有关的蛋白, 抑制 SGs 中翻译起始因子、mRNA 结合蛋白和 mRNA 的结合, 而不调节 TIA-1 和 TIAR 的聚集能力, 导致形成的 SGs 逐渐减少<sup>[35]</sup>。

### 3.1.3 SGs 的抗病毒反应

对细胞而言, SGs 提供了一种固有的拮抗病毒的机制, 具有潜在的抗病毒功能。在病毒感染不诱导 SGs 的情况下, 越来越多的证据表明, SGs 形成和病毒传播之间呈负相关。如日本脑炎病毒通过病毒核心蛋白和 caprin-1 之间的相互作用抑制 SGs 的形成<sup>[36]</sup>; SGs 通过结合与负链 RNA 互补的 3' 茎环来整合黄病毒 RNA 复制所需的 TIA-1 和 TIAR<sup>[37]</sup>。

### 3.1.4 SGs 在 NDV 复制中的作用

SGs 就是病毒与细胞相互争夺的一个武器, NDV 感染会触发 SGs 的稳定形成, 只有 NDV 感染的细胞中能够检测到 SGs 的存在<sup>[37]</sup>, SGs 的标志物 TIA-1、G3BP1、小核糖体蛋白 rpS6、翻译起始因子 eIF4E 和 eIF4G 均有共定位, 说明 NDV 诱导的 SGs 为经典 SGs<sup>[38]</sup>。如图 1 所示, NDV 依赖于 PKR/eIF2 $\alpha$  通路诱导 SGs 形成。NDV 感染宿主细胞后, 蛋白激酶 R (PKR) 会被双链 RNA 激活, 激活的 PKR 进一步磷酸化 eIF2 $\alpha$ , eIF2 $\alpha$  磷酸化通过降低三元复合物 eIF2 $\alpha$ /GTP/tRNA<sup>iMet</sup> 的水平招募 SGs 形成复合物<sup>[39]</sup>。SGs 的蛋白标志物 G3BP、TIA-1 及病毒 NP 蛋白有共定位现象, 这表明 NDV 不但可

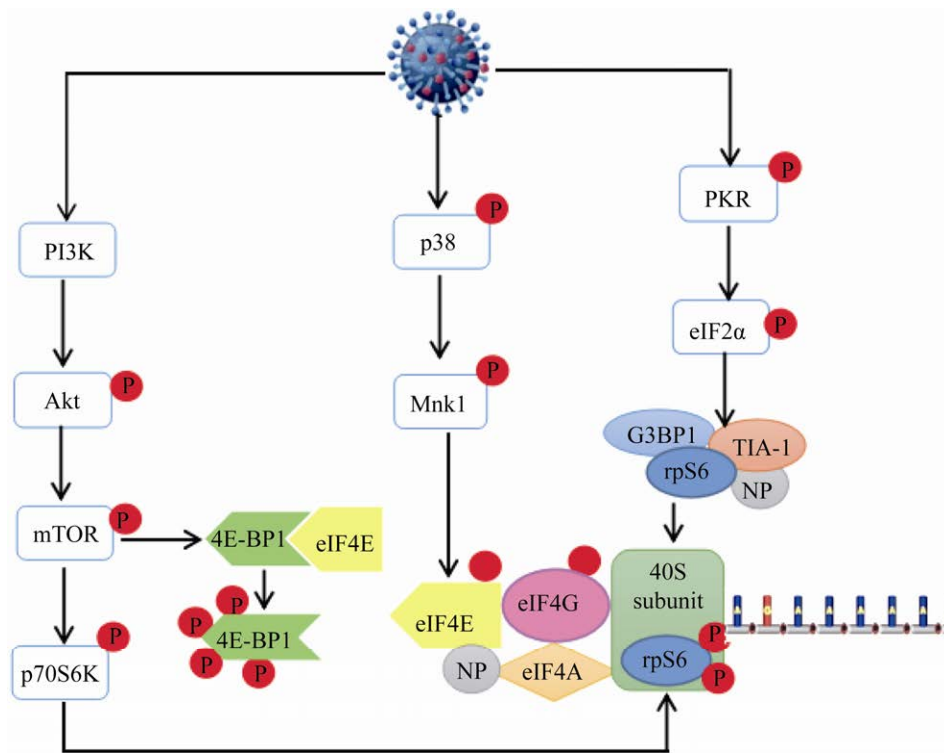


图 1 NDV 诱导肿瘤细胞核糖体应激机制模型图

Figure 1 Model diagram of NDV-induced tumor cell ribosomal stress mechanism.

以诱导 SGs 形成, 还能招募 NP 蛋白到 SGs 中。SGs 形成关键因素 TIA-1 和 TIAR 的敲低能够显著抑制 NDV 蛋白的表达及病毒释放, 并且能够同时导致细胞总蛋白的翻译水平上升。因此, 可认为 TIA-1 和 TIAR 通过操纵细胞的蛋白翻译来调节 NDV 复制, NDV 诱导 SGs 形成以降低总蛋白翻译水平。

此外, 通过使用诺考达唑处理细胞, 观察到明显的微管解聚, 但 SGs 的形成不受影响。细胞松弛素 D 处理细胞后, 发现微丝解聚, SGs 同样没有影响。同时, 二者的施用既不影响 PKR/eIF2 $\alpha$  的磷酸化, 也不影响全局蛋白质的形成。这些结果揭示了 NDV 感染后微管破坏导致 SGs 的形成<sup>[36]</sup>。金燕和谢晓娟等实验表明, NDV F3 抑制肺癌细胞和宫颈癌细胞的增殖、侵袭、迁移, 诱导细胞凋亡, 其机制可能与微丝

骨架相关的 RhoA/ROCK 通路有关<sup>[40-41]</sup>。

### 3.2 NDV 对肿瘤细胞真核翻译起始复合体的调控作用

#### 3.2.1 NDV 通过 eIF2 $\alpha$ 介导翻译起始复合体 eIF4F

NDV 感染细胞后诱导 eIF4F 的磷酸化并激活宿主的真核翻译系统的过程主要由 eIF2 $\alpha$  介导。真核翻译复合体(eukaryotic translation initiation factor 4F, eIF4F)由帽结合蛋白(eIF4E)、支架蛋白(eIF4G)、DET D-box RNA 解旋酶(eIF4A) 3 个部分组成。eIF4E 能与 mRNA 5'帽子结构结合, 该环节是翻译起始的核心; eIF4A 是依赖 RNA 的酶, 能使 mRNA 5'非翻译区(UTR)的二级结构解旋, 使 40S 核糖体亚基更好地附着并扫描起始密码子; 而 eIF4G 是一种分子衔接蛋白, 主要负责核糖体的附着, 不但可以与 eIF4E

和 eIF4A 结合, 还可以通过蛋白之间相互作用的方式成为连接 mRNA 与核糖体亚基之间的桥梁。eIF2 $\alpha$  是真核翻译起始的负调控因子, eIF2 $\alpha$  在 Ser 51 的磷酸化会损害三元复合物中 GTP 交换 GDP, 导致全局蛋白质合成急剧抑制。许多病毒在感染期间靶向 eIF4F, 以通过不同的策略促进自身复制。在 NDV 感染期间, PI3K/Akt/mTOR 通路的下游效应分子 eIF4E 和 4E-BP1 被激活, 诱导 4E-BP1 过磷酸化以促进 eIF4F 的装配。肠道病毒和杯状病毒可以编码裂解 eIF4G 以抑制依赖帽翻译的蛋白酶<sup>[42]</sup>。水泡性口炎病毒和脊髓灰质炎病毒会诱导 4E-BP1 的去磷酸化以阻止 eIF4E 并限制 eIF4F 的形成<sup>[43]</sup>。抑制宿主帽依赖性翻译并不能阻止病毒 mRNA 翻译, 因为许多 RNA 病毒在 5' 非翻译区包含一个内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES), 可指导帽非依赖性翻译。

### 3.2.2 NDV 通过 PI3K/Akt/mTOR 通路调控翻译起始复合体 eIF4F

PI3K/Akt/mTOR 通路经常在各种人类癌症中激活, 在细胞增殖、生长、代谢重编程、侵袭转移、抑制细胞自噬和衰老等方面发挥重要作用。据报道, 血根碱可能通过调节 PI3K/Akt/mTOR 通路在上皮性卵巢癌细胞中表现出抗肿瘤作用, 抑制细胞侵袭、迁移, 促进细胞凋亡, 且该通路能够随着氨基酸剥夺长度的增加而被激活, 从而抑制 eIF4E 表达, 进一步降低自噬相关基因转录, 抑制自噬细胞死亡<sup>[44-45]</sup>。一线化疗药物紫杉醇的获得性耐药是导致非小细胞癌症患者化疗失败的主要因素, 而 NDV 在治疗肺癌方面有巨大潜力, 它通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路在肺癌细胞中触发自噬, 从而促进肿瘤细胞发生自噬<sup>[46]</sup>。如图 1 所

示, NDV 感染后激活 PI3K/Akt/mTOR 通路, 诱导 eIF4G 和 4E-BP1 发生磷酸化, 4E-BP1 过磷酸化解离出足够的 eIF4E, 从而促进 eIF4F 复合体的形成并增强其翻译起始活性, 保证病毒 mRNA 的顺利翻译。另外, NDV 使 rpS6 活化, 其作为 40S 核糖体小亚基成分可以特异性地促进 mRNA 的翻译, 从而在一定程度上促进病毒蛋白翻译过程, 进一步诱导细胞凋亡和自噬发生。抑制 PI3K 信号会增加 4E-BP1 的数量并随后阻止 eIF4F 组装, 从而抑制 NDV 感染细胞中病毒 mRNA 的翻译<sup>[47]</sup>。

### 3.2.3 NDV 通过 MAPK 通路调控翻译起始复合体 eIF4F

促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路在基因表达调控和细胞有丝分裂、新陈代谢和凋亡等功能活动中发挥重要调节作用。据报道, 基孔肯雅病毒感染细胞后会导致 p38 MAPK 磷酸化显著降低, 促进细胞自噬, 抑制病毒复制<sup>[48]</sup>。p38 MAPK 通路参与免疫和炎症的调节, p38 通路激活翻译起始的 MNK1/eIF4E 途径调节 IFN $\gamma$  分泌<sup>[49]</sup>。在前列腺癌中, Ras MAPK 通路调节 eIF4E, 该因子在雷帕霉素激活的机制靶标上与 eIF4G 结合, 并被丝裂原活化蛋白激酶相互作用蛋白激酶磷酸化<sup>[50]</sup>。NDV 感染会激活 p38 MAPK 和 MNK1 (图 1), 调节蛋白的修饰和 eIF4E 的磷酸化状态, 靶向 eIF4F, 促进病毒复制, 抑制蛋白翻译, 最终导致细胞发生凋亡。eIF4E 磷酸化可能控制翻译以启动新转录的 NDV 病毒 mRNA, 而不是直接操纵 NDV 感染。NDV 感染诱导的 Mnk1 信号通路激活不仅起到了 eIF4E 磷酸化的作用, 而且还起到了维持 4E-BP1 磷酸化和病毒蛋白合成的作用, 以响应雷帕霉素处理。Ch'ng 等实验证实, p38 MAPK 磷酸化发生在 NDV 诱导的 NF- $\kappa$ B 激活

的上游, 推测 p38 MAPK/NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$  通路参与 NDV 感染和肾癌细胞凋亡<sup>[51]</sup>。同时, Jiang 等报道重组新城疫溶瘤病毒使甲状腺癌细胞中的 p38 MAPK 通路激活, caspase3 和 ADP-核糖聚合酶裂解上调<sup>[52]</sup>, 最后发挥其溶瘤作用促进细胞发生凋亡反应。

### 3.2.4 NDV 核蛋白(NP)通过与 eIF4F 互作来调节翻译过程

病毒蛋白通过与 eIF4F 相互作用来招募其进行病毒 mRNA 的翻译。比如, 杯状病毒的病毒基因末端结合蛋白(viral protein genome-linked, VPg)可以与 eIF4E 和 eIF3 相互作用, 从而促进核糖体与病毒 mRNA 的结合<sup>[53]</sup>。流感病毒的 NS1 蛋白能够通过 eIF4G 之间的作用将 eIF4F 招募至病毒 mRNA 周围, 选择性地促进病毒 mRNA 翻译<sup>[54]</sup>。此外, 由于 NS1 蛋白与 eIF4G 之间的亲和力较强, 可以抑制宿主 mRNA 与 eIF4F 相互作用, 造成宿主蛋白合成的暂停。与此同时, NDV 也能通过其自身编码的 NP 蛋白调节翻译系统来促进病毒复制。如图 1 所示, NDV 感染肿瘤细胞后, 其自身编码的 NP 蛋白被招募到 eIF4F 中, 与 eIF4E 在病毒复制的区域相互作用, 同时降低 eIF4E 用于细胞 mRNA 翻译的可用性, 促进病毒 mRNA 的翻译, 抑制宿主蛋白合成。Zhan 等通过免疫共沉淀和 GST pull down 实验发现, NP 蛋白与 eIF4F 存在相互作用, 免疫荧光染色也证实 eIF4E 与 NP 蛋白存在共定位现象, 这些结果证实了 NDV 通过 NP 蛋白与 eIF4F 互作来促进病毒复制<sup>[47]</sup>。另一方面, Liu 等对 NDV HBNU/LSRC/F3 株进行了全基因组测序, 并与其他 NDV 序列进行了比较, 结果表明该毒株属于 II 类基因-新城疫病毒 IX 型组<sup>[55]</sup>。随后高翠等实验证明, NDV 弱毒株 HBNU/LSRC/F3 可有效抑制食管癌细胞增殖, 虽略

低于中等毒力 Mukteswar 株, 但远高于弱毒力株 LaSota<sup>[56]</sup>。李冠华等又对其 HN 蛋白进行了生物信息学分析, 并证明了 HN 蛋白具有一定的抗肿瘤作用<sup>[57-58]</sup>。

## 4 总结与展望

肿瘤是威胁人类生命健康的难治疾病, 尽管过去几十年采用了积极的治疗方法, 但患者的治愈率仍较低。溶瘤病毒是具有巨大潜力的新型癌症治疗方法之一。NDV 在临床研究中证实为最具潜力的溶瘤病毒之一。NDV 能够通过诱导肿瘤细胞发生凋亡、自噬、抑制细胞代谢、触发一系列免疫反应等机制发挥其溶瘤作用。不仅如此, NDV 还能够触发核糖体发生应激反应, 造成肿瘤细胞周期发生停滞, 核仁定位分子发生移位。对细胞而言, 核糖体发生应激反应的同时, 会产生拮抗机制, 如 SGs。NDV 诱导宿主形成经典的 SGs 以促进病毒复制。NDV 侵染肿瘤细胞后通过激活 PI3K/Akt/mTOR 和 p38MAPK/Mnk1 通路诱导 eIF4E 磷酸化并促进 eIF4F 复合体的形成, 保证病毒 mRNA 的顺利翻译。

溶瘤病毒可以在肿瘤细胞中选择性复制, 从而达到选择性杀伤肿瘤细胞的效果。NDV 虽然能诱导肿瘤细胞发生凋亡与自噬等反应, 但对人类正常细胞几乎无影响, 从而减轻了治疗的不良反应。成功的病毒治疗需要患者的肿瘤细胞对病毒敏感。因此, 开发预测肿瘤是否对特定病毒敏感的快速方便的体外测定是非常必要的。肿瘤细胞是否允许产生感染性副粘病毒颗粒取决于细胞表面是否存在特定的病毒受体, 干扰素信号通路的失活和细胞凋亡反应, 病毒融合蛋白加工所需的蛋白水解酶的表达 3 个方面<sup>[59]</sup>。与此同时, 尽管对 NDV 进行了 I/II 期临床试验, 但仍需进一步改进肿

瘤特异性靶向治疗以提高其肿瘤治疗指数。其中一项临床试验在加拿大和美国的多个研究中心进行,涉及到 100 多位癌症患者,NDV 静脉给药后表明大剂量使用相当安全<sup>[59]</sup>。另一项临床试验在德国进行,50 名患者的 III 期临床试验,评估使用含有感染 NDV 的自体肿瘤细胞疫苗进行特异性免疫的效果,发现 NDV 治疗提高了 10 年生存率<sup>[59]</sup>。

虽然溶瘤病毒疗法具有非常广阔的前景,但提高这种治疗方法的疗效和特异性也是一个重大挑战。多项研究证明,溶瘤病毒治疗与化疗、放疗、免疫检查点阻断等新颖的治疗方式联合具有协同抗肿瘤作用。因此,可以将提高溶瘤病毒疗效作为研究重点,主要包括增强病毒破坏肿瘤细胞的能力、优化病毒向肿瘤的传递和转移等方面。

## 参考文献

- [1] Walsh RJ, Tan DSP. The role of immunotherapy in the treatment of advanced cervical cancer: current status and future perspectives. *Journal of Clinical Medicine*, 2021, 10(19): 4523.
- [2] Meng QX, He J, Zhong LP, Zhao YX. Advances in the study of antitumor immunotherapy for Newcastle disease virus. *International Journal of Medical Sciences*, 2021, 18(11): 2294–2302.
- [3] Ames A, Wang YB, Raje H, Rosby R, Di Mario P. Nucleolar stress with and without p53. *Nucleus: Austin, Tex*, 2014, 5(5): 402–426.
- [4] Huang ZM, Liu MY, Huang Y. Oncolytic therapy and gene therapy for cancer: recent advances in antitumor effects of Newcastle disease virus. *Discovery Medicine*, 2020, 30(159): 39–48.
- [5] Liao Y, Wang HX, Mao X, Fang HJ, Wang H, Li YR, Sun YJ, Meng C, Tan L, Song CP, Qiu XS, Ding C. RIP<sub>1</sub> is a central signaling protein in regulation of TNF- $\alpha$ /TRAIL mediated apoptosis and necroptosis during Newcastle disease virus infection. *Oncotarget*, 2017, 8(26): 43201–43217.
- [6] 刘开扬, 屈建国, 刘进军, 刘芳. 新城疫病毒对 BGC-823 胃癌细胞线粒体的影响. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2008(3): 198–200.
- [7] Liu KY, Qu JG, Liu JJ, Liu F. Effects of Newcastle disease virus on the mitochondria of human gastric carcinoma BGC-823 cells. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology*, 2008(3): 198–200. (in Chinese)
- [8] 徐婷婷, 韩继武. 新城疫病毒抗恶性肿瘤研究进展. *医学综述*, 2019, 25(6): 1123–1127.
- [9] Xu TT, Han JW. Research progress of Newcastle disease virus in anti-malignant tumors. *Medical Recapitulate*, 2019, 25(6): 1123–1127. (in Chinese)
- [10] Bu XF, Zhao YH, Zhang ZJ, Wang MB, Li M, Yan YL. Recombinant Newcastle disease virus (rL-RVG) triggers autophagy and apoptosis in gastric carcinoma cells by inducing ER stress. *American Journal of Cancer Research*, 2016, 6(5): 924–936.
- [11] Yan YL, Liu S, Li M, Zhao YH, Shao XM, Hang M, Bu XF. Recombinant Newcastle disease virus expressing human IFN- $\lambda$ 1 (rL-hIFN- $\lambda$ 1)-induced apoptosis of A549 cells is connected to endoplasmic reticulum stress pathways. *Thoracic Cancer*, 2018, 9(11): 1437–1452.
- [12] Al-Shammari AM, Abdullah AH, Allami ZM, Yaseen NY. 2-deoxyglucose and Newcastle disease virus synergize to kill breast cancer cells by inhibition of glycolysis pathway through glyceraldehyde 3-phosphate downregulation. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2019, 6: 90.
- [13] Al-Ziaydi AG, Al-Shammari AM, Hamzah MI, Kadhimi HS, Jabir MS. Hexokinase inhibition using D-mannoheptulose enhances oncolytic Newcastle disease virus-mediated killing of breast cancer cells. *Cancer Cell International*, 2020, 20: 420.
- [14] 王静, 卢志红, 董尚林, 刘开扬. 新城疫病毒诱导产生的抗肿瘤作用相关细胞因子. *中国人兽共患病学报*, 2011, 27(6): 563–567.
- [15] McAusland TM, Van Vloten JP, Santry LA, Guilleman MM, Rghei AD, Ferreira EM, Ingrao JC, Arulanandam R, Major PP, Susta L, Karimi K, Diallo JS, Bridle BW, Wootton SK. Combining vanadyl sulfate with Newcastle disease virus potentiates rapid innate



- immune-mediated regression with curative potential in murine cancer models. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 2021, 20: 306–324.
- [15] Zhao LJ, Niu C, Shi XM, Xu DS, Li M, Cui JW, Li W, Xu JT, Jin HF. Dendritic cells loaded with the lysate of tumor cells infected with Newcastle disease virus trigger potent anti-tumor immunity by promoting the secretion of IFN- $\gamma$  and IL-2 from T cells. *Oncology Letters*, 2018, 16(1): 1180–1188.
- [16] Schwaiger T, Knittler MR, Grund C, Roemer-Oberdoerfer A, Kapp JF, Lerch MM, Mettenleiter TC, Mayerle J, Blohm U. Newcastle disease virus mediates pancreatic tumor rejection via NK cell activation and prevents cancer relapse by prompting adaptive immunity. *International Journal of Cancer*, 2017, 141(12): 2505–2516.
- [17] Wang XK, Shao XY, Gu L, Jiang K, Wang ST, Chen JH, Fang JM, Guo XL, Yuan M, Shi J, Ding C, Meng SS, Xu Q. Targeting STAT3 enhances NDV-induced immunogenic cell death in prostate cancer cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, 24(7): 4286–4297.
- [18] Ricca JM, Oseledchik A, Walther T, Liu CL, Mangarin L, Merghoub T, Wolchok JD, Zamarin D. Pre-existing immunity to oncolytic virus potentiates its immunotherapeutic efficacy. *Molecular Therapy*, 2018, 26(4): 1008–1019.
- [19] Vijayakumar G, Palese P, Goff PH. Oncolytic Newcastle disease virus expressing a checkpoint inhibitor as a radioenhancing agent for murine melanoma. *EBioMedicine*, 2019, 49: 96–105.
- [20] Lu L, Yi HM, Chen C, Yan SC, Yao H, He GC, Li GF, Jiang YQ, Deng T, Deng XY. Nucleolar stress: is there a reverse version? *Journal of Cancer*, 2018, 9(20): 3723–3727.
- [21] Ma H, Pederson T. The nucleolus stress response is coupled to an ATR-Chk1-mediated G2 arrest. *Molecular Biology of the Cell*, 2013, 24(9): 1334–1342.
- [22] Wang Y, Wang R, Li YR, Sun YJ, Song CP, Zhan Y, Tan L, Liao Y, Meng CC, Qiu XS, Ding C. Newcastle disease virus induces G0/G1 cell cycle arrest in asynchronously growing cells. *Virology*, 2018, 520: 67–74.
- [23] Omer A, Patel D, Moran JL, Lian XJ, Di Marco S, Gallouzi IE. Autophagy and heat-shock response impair stress granule assembly during cellular senescence. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2020, 192: 111382.
- [24] Gaete-Argel A, Velásquez F, Márquez CL, Rojas-Araya B, Bueno-Nieto C, Marín-Rojas J, Cuevas-Zúñiga M, Soto-Rifo R, Valiente-Echeverría F. Tellurite promotes stress granules and nuclear SG-like assembly in response to oxidative stress and DNA damage. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 622057.
- [25] Advani VM, Ivanov P. Stress granule subtypes: an emerging link to neurodegeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2020, 77(23): 4827–4845.
- [26] Asadi MR, Rahmanpour D, Moslehian MS, Sabaie H, Hassani M, Ghafouri-Fard S, Taheri M, Rezazadeh M. Stress granules involved in formation, progression and metastasis of cancer: a scoping review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 745394.
- [27] Shi JC, Li Z, Xu RY, Zhang J, Zhou QY, Gao R, Lu HJ, Lan YG, Zhao K, He HB, Gao F, He WQ. The PERK/PKR-eIF2 $\alpha$  pathway negatively regulates porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus replication by attenuating global protein translation and facilitating stress granule formation. *Journal of Virology*, 2022, 96(1): e0169521.
- [28] Lu X, Alam U, Willis C, Kennedy D. Role of chikungunya nsP3 in regulating G3BP1 activity, stress granule formation and drug efficacy. *Archives of Medical Research*, 2021, 52(1): 48–57.
- [29] Blázquez AB, Martín-Acebes MA, Poderoso T, Saiz JC. Relevance of oxidative stress in inhibition of eIF2 $\alpha$  phosphorylation and stress granules formation during Usutu virus infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2021, 15(1): e0009072.
- [30] Emara MM, Brinton MA. Interaction of TIA-1/TIAR with West Nile and dengue virus products in infected cells interferes with stress granule formation and processing body assembly. *PNAS*, 2007, 104(21): 9041–9046.
- [31] Montero H, Trujillo-Alonso V. Stress granules in the viral replication cycle. *Viruses*, 2011, 3(11): 2328–2338.
- [32] Anderson P, Kedersha N. Stress granules: the Tao of RNA triage. *Trends in Biochemical Sciences*, 2008, 33(3): 141–150.
- [33] Lindquist ME, Lifland AW, Utley TJ, Santangelo PJ, Crowe JE Jr. Respiratory syncytial virus induces host RNA stress granules to facilitate viral replication. *Journal of Virology*, 2010, 84(23): 12274–12284.
- [34] Lloyd RE. Regulation of stress granules and P-bodies

- during RNA virus infection. *Wiley Interdisciplinary Reviews RNA*, 2013, 4(3): 317–331.
- [35] Piotrowska J, Hansen SJ, Park N, Jamka K, Sarnow P, Gustin KE. Stable formation of compositionally unique stress granules in virus-infected cells. *Journal of Virology*, 2010, 84(7): 3654–3665.
- [36] Sun YJ, Dong LN, Yu SQ, Wang XX, Zheng H, Zhang P, Meng CC, Zhan Y, Tan L, Song CP, Qiu XS, Wang GJ, Liao Y, Ding C. Newcastle disease virus induces stable formation of Bona fide stress granules to facilitate viral replication through manipulating host protein translation. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2017, 31(4): 1337–1353.
- [37] 张频. 鸡 TIA-1 和 G3BP1 在应激颗粒形成和抗病毒反应过程中的作用. 山东农业大学硕士学位论文, 2017.
- [38] 孙英杰. 新城疫病毒诱导宿主细胞应激颗粒形成机制的研究. 中国农业科学院博士学位论文, 2015.
- [39] Oh SW, Onomoto K, Wakimoto M, Onoguchi K, Ishidate F, Fujiwara T, Yoneyama M, Kato H, Fujita T. Leader-containing uncapped viral transcript activates RIG-I in antiviral stress granules. *PLoS Pathogens*, 2016, 12(2): e1005444.
- [40] 金燕, 王静, 庞森, 张晓雪, 刘开扬. 新城疫病毒通过影响细胞微丝骨架对宫颈癌 HeLa 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用. *天津医药*, 2021, 49(1): 1–6, 113. Jin Y, Wang J, Pang M, Zhang XX, Liu KY. The inhibitory effect of Newcastle disease virus on the proliferation, migration and invasion of HeLa cells by affecting the cellular microfilament skeleton. *Tianjin Medical Journal*, 2021, 49(1): 1–6, 113. (in Chinese)
- [41] 谢晓娟, 金燕, 王静, 兰金苹, 武彩霞, 刘宇, 刘开扬. 细胞微丝骨架在 NDV 诱导肺癌细胞凋亡中的作用. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(1): 51–56. Xie XJ, Jin Y, Wang J, Lan JP, Wu CX, Liu Y, Liu KY. Role of microfilament sketeton in NDV inducing apoptosis of human lung cancer cells. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui*, 2020, 55(1): 51–56. (in Chinese)
- [42] Lloyd RE. Translational control by viral proteinases. *Virus Research*, 2006, 119(1): 76–88.
- [43] Walsh D, Mohr I. Viral subversion of the host protein synthesis machinery. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(12): 860–875.
- [44] Zhang SX, Leng TY, Zhang Q, Zhao QH, Nie XF, Yang LH. Sanguinarine inhibits epithelial ovarian cancer development via regulating long non-coding RNA CASC<sub>2</sub>-EIF4A3 axis and/or inhibiting NF- $\kappa$ B signaling or PI3K/AKT/mTOR pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 102: 302–308.
- [45] Hu ZH, Cai MB, Deng L, Zhu LC, Gao J, Tan MZ, Liu JJ, Lin B. The fucosylated CD147 enhances the autophagy in epithelial ovarian cancer cells. *Oncotarget*, 2016, 7(50): 82921–82932.
- [46] Jiang K, Li YC, Zhu QM, Xu JS, Wang YP, Deng WG, Liu Q, Zhang GR, Meng SS. Pharmacological modulation of autophagy enhances Newcastle disease virus-mediated oncolysis in drug-resistant lung cancer cells. *BMC Cancer*, 2014, 14: 551.
- [47] Zhan Y, Yu SQ, Yang S, Qiu XS, Meng CC, Tan L, Song CP, Liao Y, Liu WW, Sun YJ, Ding C. Newcastle disease virus infection activates PI3K/Akt/mTOR and p38 MAPK/Mnk1 pathways to benefit viral mRNA translation via interaction of the viral NP protein and host eIF4E. *PLoS Pathogens*, 2020, 16(6): e1008610.
- [48] Mudaliar P, Pradeep P, Abraham R, Sreekumar E. Targeting cap-dependent translation to inhibit Chikungunya virus replication: selectivity of p38 MAPK inhibitors to virus-infected cells due to autophagy-mediated down regulation of phospho-ERK. *The Journal of General Virology*, 2021, 102(7): 001629.
- [49] Salvador-Bernáldez M, Mateus SB, Del Barco Barrantes I, Arthur SC, Martínez-A C, Nebreda AR, Salvador JM. p38 $\alpha$  regulates cytokine-induced IFN $\gamma$  secretion via the Mnk1/eIF4E pathway in Th1 cells. *Immunology and Cell Biology*, 2017, 95(9): 814–823.
- [50] D’Abronzio LS, Ghosh PM. eIF4E phosphorylation in prostate cancer. *Neoplasia*, 2018, 20(6): 563–573.
- [51] Ch’ng WC, Abd-Aziz N, Ong MH, Stanbridge EJ, Shafee N. Human renal carcinoma cells respond to Newcastle disease virus infection through activation of the p38 MAPK/NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$  pathway. *Cellular Oncology: Dordrecht*, 2015, 38(4): 279–288.
- [52] Jiang K, Song CP, Kong LK, Hu LL, Lin GB, Ye T, Yao G, Wang YP, Chen HB, Cheng W, Barr MP, Liu Q, Zhang GR, Ding C, Meng SS. Recombinant oncolytic Newcastle disease virus displays antitumor activities in anaplastic thyroid cancer cells. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 746.
- [53] Daughenbaugh KF, Fraser CS, Hershey JWB, Hardy ME. The genome-linked protein VPg of the Norwalk virus binds eIF<sub>3</sub>, suggesting its role in translation initiation complex recruitment. *The EMBO Journal*, 2003, 22(11): 2852–2859.

- [54] Burgui I, Aragón T, Ortín J, Nieto A. PABP<sub>1</sub> and eIF4GI associate with influenza virus NS<sub>1</sub> protein in viral mRNA translation initiation complexes. *The Journal of General Virology*, 2003, 84(12): 3263–3274.
- [55] Liu KY, Ma YY, Wang J, Mu HG, Gao C, Yang CJ, Liu JJ. Complete genome sequencing and analysis of an anti-tumor Newcastle disease virus strain. *Gene*, 2013, 525(1): 47–57.
- [56] 高翠, 王静, 马媛媛, 张斌, 邢立强, 刘华, 刘进军, 刘开扬. 新城疫病毒 HBNU/LSRC/F3 株与 Mukteswar、LaSota 株抗肿瘤效果的比较. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2013, 20(2): 212–216.
- Gao C, Wang J, Ma YY, Zhang B, Xing LQ, Liu H, Liu JJ, Liu KY. Comparison of antitumor effect of Newcastle disease virus HBNU/LSRC/F3 strain to ECA109 cells with Mukeswar and LaSota strains. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*, 2013, 20(2): 212–216. (in Chinese)
- [57] 李冠华, 马媛媛, 王静, 武彩霞, 刘进军, 刘开扬. 新城疫病毒 HBNU/LSRC/F3 株 HN 基因的克隆及生物信息学分析. *中国病原生物学杂志*, 2016, 11(4): 305–311.
- Li GH, Ma YY, Wang J, Wu CX, Liu JJ, Liu KY. Cloning and bioinformatic analysis of the hemagglutinin-neuraminidase gene of the HBNU/LSRC/F3 strain of the Newcastle disease virus. *Journal of Pathogen Biology*, 2016, 11(4): 305–311. (in Chinese)
- [58] 李冠华, 王静, 武彩霞, 刘华, 刘进军, 刘开扬. 新城疫病毒 HBNU/LSRC/F3 株 HN 基因真核表达及其编码蛋白的抗肿瘤功能研究. *中国病原生物学杂志*, 2016, 11(10): 900–904.
- Li GH, Wang J, Wu CX, Liu H, Liu JJ, Liu KY. The eukaryotic expression of the hemagglutinin-neuraminidase gene of the HBNU/LSRC/F3 strain of the Newcastle disease virus and the antitumor function of the protein that gene codes for. *Journal of Pathogen Biology*, 2016, 11(10): 900–904. (in Chinese)
- [59] Matveeva OV, Kochneva GV, Zainutdinov SS, Ilyinskaya GV, Chumakov PM. Oncolytic paramyxoviruses: mechanism of action, preclinical and clinical studies. *Molekuliarnaia Biologiya*, 2018, 52(3): 360–379.

(本文责编 张晓丽)