

逆转录转座子 LINE-1 与肿瘤的发生和发展

刘茜¹, 王瑾晖², 李晓宇¹, 岑山¹

1. 中国医学科学院&北京协和医学院 医药生物技术研究所以免疫生物学室, 北京 100050;

2. 中国医学科学院&北京协和医学院 北京协和医院妇产科, 北京 100730

摘要: LINE-1 是现今人体内存在的唯一具有自主转座活性的转座子, 约有 500 000 个拷贝, 占人类基因组总量的 17%。LINE-1 是通过转录和逆转录在内的转座过程产生新的 DNA 拷贝, 并使新产生的 DNA 拷贝插入基因组的不同位置。LINE-1 转座会影响基因组中其他基因的表达或调控, 因而会对基因组的稳定性产生影响, 从而导致基因疾病或肿瘤的发生。本文总结了近年来国际上对 LINE-1 转座与肿瘤的发生和发展之间关系的研究进展, 为肿瘤的治疗和机制研究提供一些线索。

关键词: 转座; 逆转录转座子; 基因组; LINE-1; 肿瘤; 基因稳定性; 逆转录酶

The connection between LINE-1 retrotransposition and human tumorigenesis

Qian Liu¹, Jinhui Wang², Xiaoyu Li¹, Shan Cen¹

1. Department of Immunology, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;

2. Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Abstract: LINE-1 is the only currently known active autonomous transposon in humans with an estimated 500 000 copies representing 17% of the human genome. LINE-1 propagates itself through a process called retrotransposition, which includes transcription and reverse transcription, to produce new DNA copies. The new produced DNA copies can integrate into new genomic loci. The insertion of LINE-1 is able to cause genetic instability by affecting the expression or regulation of the nearby genes, thus causing dozens of genetic diseases or tumors. In this review, we summarize the recent research progress on the connection between LINE-1 retrotransposition and human tumorigenesis, which might shed light on the biology mechanisms and treatment of the tumorigenesis.

Keywords: transposition; retrotransposon; genome; LINE-1; tumor; genetic instability; reverse transcriptase

收稿日期: 2015-11-16; 修回日期: 2015-12-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31270210)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31270210)]

作者简介: 刘茜, 硕士研究生, 专业方向: MOV10 抑制 LINE-1 分子机制的研究。E-mail: shine_lqian@163.com

通讯作者: 李晓宇, 博士, 副研究员, 研究方向: 病毒学。E-mail: xiaoyulik@hotmail.com

岑山, 博士, 研究员, 研究方向: 病毒学。E-mail: shancen@hotmail.com

DOI: 10.16288/j.ycz.15-470

网络出版时间: 2016/1/5 16:42:33

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160105.1642.006.html>

在传统遗传学观念中,基因作为具有遗传效应的 DNA 片段在染色体上的位置是固定不变的,基因只能通过交换重组改变自己的相对位置^[1]。然而,在 20 世纪 40 年代,美国科学家 Barbara McClintock 在研究玉米种子的杂色成因时,发现了一类可在染色体内或不同染色体之间自由活动的遗传成分,当时称之为“跳跃基因”^[2],这就是现在所说的转座子 (Transposon),也称为转座元件 (Transposable elements, TEs)。转座子的发现,修正和提升了人们对基因的理解。

根据转座方式的不同,转座子分为 DNA 转座子和 RNA 转座子两大类。DNA 转座子是自身编码有转座酶的 DNA 片段,可将自身的 DNA 片段从原有的基因组位置上剪切下来插入到基因组的其他位点,这种复制方式被人们形象地形容为“剪切-粘贴”模式。DNA 转座子只占人类基因组的 3%,而且都处于失活状态^[3]。RNA 转座子,又称为逆转录转座子 (Retrotransposons),是以 RNA 为媒介进行转座的,其复制方式通常被形容为“复制-粘贴”模式,即首先通过转录合成 RNA 中间体,再以该 RNA 为模板逆转录合成 DNA 整合入基因组其他位置^[4]。逆转录转座子根据其末端是否含有重复序列又分为 LTR(Long terminal repeats)和非 LTR(Non-long terminal repeats)逆转录转座子。LTR 逆转录转座子来源于古代整合入基因组的逆转录病毒,因此它的组成与复制方式与逆转录病毒极为相似,又被称为内源性逆转录病毒(Human endogenous retroviruses, HEVRs)。在长期的进化过程中这一类转座子在人体中已经失去了转座的能力^[5]。

属于非 LTR 逆转录转座子的 LINE-1(长散布元件, Long interspersed elements-1)是现今在人类基因组中唯一具有自主转座能力的转座子^[6],它能够编码转座所必需的蛋白和酶,广泛分布于基因组中。LINE-1 在人基因组中有近 500 000 个拷贝,约占基因组总量的 17%^[7],此外它还可以协助不具有自主转座能力的非 LTR 转座子 SINEs(短散布元件, Short interspersed elements)进行转座。LINE-1 转座会影响基因组中其他基因的表达或调控,对基因组的稳定性产生影响,因此对 LINE-1 的研究是目前转座子领域研究的热点。

本文主要介绍了 LINE-1 的结构以及在人体细胞中复制转座的过程,讨论了体细胞对 LINE-1 的抑制以及 LINE-1 在肿瘤细胞中的活性。同时,对 LINE-1 在肿瘤中可能发生的作用也进行了探讨,讨论了它影响宿主基因调控及基因组稳定性的方式。最后,对 LINE-1 与肿瘤的检测和治疗在临床上应用的最新进展进行了介绍,以期对肿瘤的治疗和机制研究提供一些线索。

1 LINE-1 转座对基因稳定性的影响

1.1 LINE-1 的复制与转座

人类细胞中的 LINE-1 基因长度约为 6000nt,以前认为包括有 3'端和 5'端的非翻译区(Untranslated region, UTR)和两个开放式读码框架 *orf1* 及 *orf2*。LINE-1 的生活周期起始于全长 RNA 的转录,该 RNA 是由宿主细胞的 RNA 合成酶 II 所合成,5'非翻译区是 LINE-1 启动子的所在区域。所合成的 RNA 具有 5'端的帽子结构和 3'端 PolyA 尾,既可作为 LINE-1 的基因组 RNA,又具有 mRNA 的功能(图 1 A)^[8,9]。

合成的 LINE-1 mRNA 进入胞浆,翻译表达出 ORF1 及 ORF2 两个蛋白与 LINE-1 mRNA 顺式结合组成核糖核蛋白体复合物(Ribonucleoprotein complexes, RNPs)。RNPs 被认为是 LINE-1 转座的中间体。ORF1 蛋白具有核酸分子伴侣的活性,具有保护 RNPs 中 LINE-1 mRNA 免被降解、促进 LINE-1 mRNA 从核糖体上脱离从而进入细胞核内、确保逆转录正确起始等多种功能^[10~13]。ORF2 蛋白具有逆转录酶和内切酶活性,在 LINE-1 mRNA 进入细胞核后,其核酸内切酶负责在宿主细胞基因组 DNA 上识别目的序列(AATTTT),并在双链 DNA 的其中一条链上打开一个切口,而后逆转录酶就会利用切口中的 3'-OH 为引物,以 LINE-1 RNA 为模板,逆转录产生 LINE-1 的 DNA,该过程称为“靶点引导逆转录过程(Target-site primed reverse transcription, TPRT)^[14]。此后 LINE-1 会在 DNA 的另一条链上切口,继续完成其 DNA 另一条链的合成并补平所产生的缺口,但具体如何进行,相关机制仍然有待研究^[15,16]。在最近的研究中,Ahmet 等^[17]在灵长类动物 LINE-1

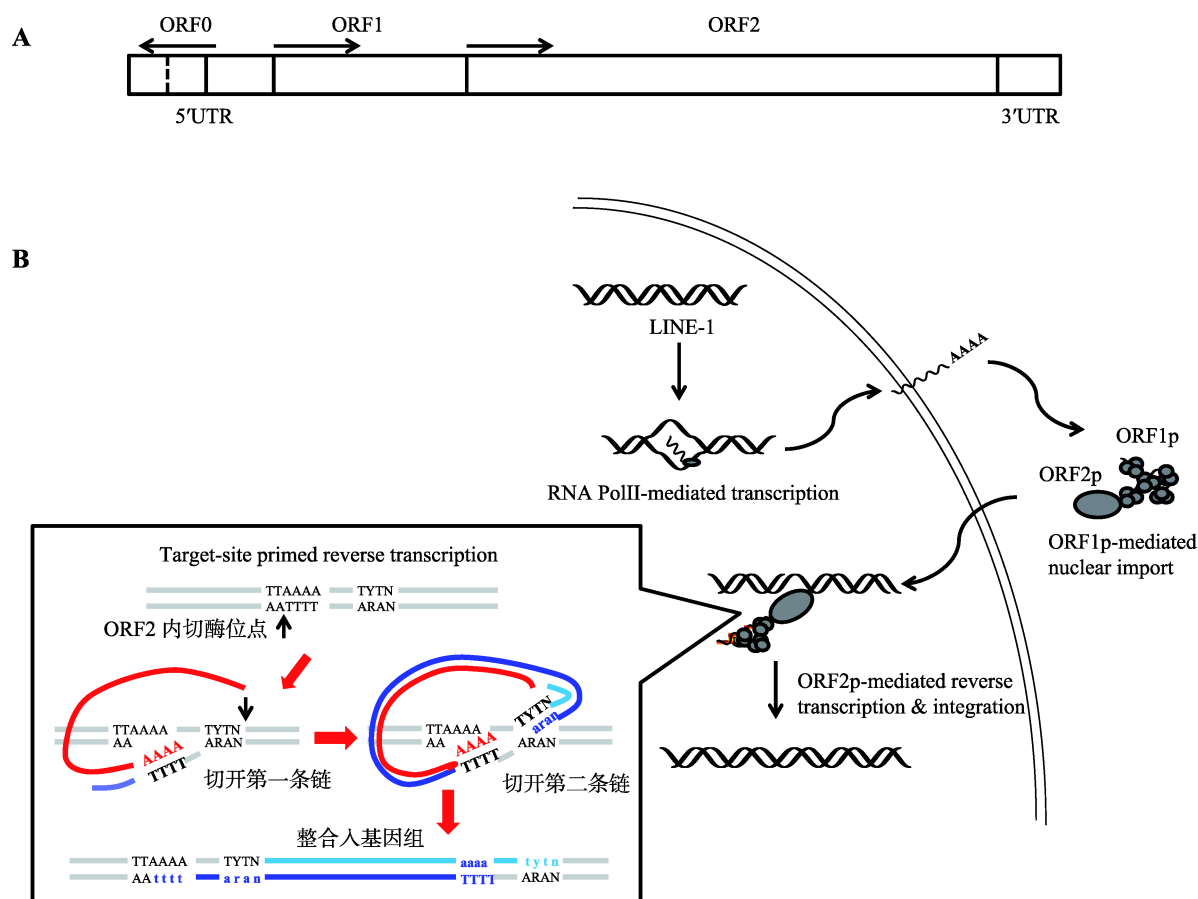


图 1 LINE-1 的生活史

Fig. 1 The lifecycle of LINE-1

A: LINE-1 的结构 LINE-1 包括 3 个编码阅读框 *orf0*、*orf1* 和 *orf2* 以及两端的 UTR 区, 其中编码的 ORF2 蛋白中含有重要的逆转录酶活性; B: LINE-1 的转座过程 LINE-1 转录生成的 RNA 和 ORF1 及 ORF2 结合形成 L1RNP 复合物, 由 ORF1 介导入核后进行“以目的位点为引物的逆转录”合成 DNA, 最后整合入基因组。

的 5'UTR 区中发现还存在一个反义的开阅读码框 *orf0*。虽然该读码框编码产物的生物学功能还有待进一步研究, 但初步的研究表明其对于 LINE-1 的转座以及 LINE-1 所介导的生物多样性都具有促进作用 (图 1 B)。

1.2 宿主细胞对 LINE-1 转座的控制

活跃的逆转录转座子在生物进化和物种形成等方面曾发挥过巨大的作用, 然而这些游走的转座原件也会对宿主细胞基因组 DNA 的结构和功能产生灾难性的结果。因而在一般情况下宿主细胞对 LINE-1 的转座有着严格地控制。现已知的策略之一是通过 LINE-1 DNA 的甲基化来沉默其 RNA 的合成^[18]。LINE-1 的 5'非翻译区(5'UTR) 中含有其 RNA

合成的内部启动子, 而这一区域大量的 CpG 岛是甲基化反应的目的序列, 此段序列的高度甲基化可抑制 LINE-1 的转录。实际上, 在正常的体细胞中, 这些序列都是高度甲基化的。多个实验室从不同的方面也证实敲除小鼠体内的甲基转移酶等会导致 LINE-1 及其他转座子的低甲基化, 从而使这些转座子高水平表达^[20]。此外, 在 DNA 甲基化程度较低的胚胎干细胞和生殖谱系细胞中 LINE-1 也较为活跃^[21~24]。

然而宿主细胞对生命活动重大事件的调控往往是多层次、多方面的。近年来的研究发现载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样蛋白 3 (APOBEC3) 蛋白亚家族的成员(包括 APOBEC3A, 3B, 3C, 3D-E, 3F, 3G 和 3H)^[25~33]、MOV10^[31~33]、SAMHD1^[34, 35]、ZAP^[36]

和 SIRT6^[37]等宿主因子对 LINE-1 也都有明显的抑制作用。

1.3 LINE-1 的转座对宿主基因组的影响

当机体对 LINE-1 的控制能力减弱时,它的转座会对其他基因产生巨大的影响。首先是对其相邻基因的影响:LINE-1 的插入会给周围的基因带来新的剪切位点、PolyA 添加信号、启动子以及相应的转录因子结合位点,这些都会影响甚至重构周围基因的表达^[38]。此外,LINE-1 在转座过程中有时会将与其 3'端或 5'端相邻的部分序列一同带入新的染色体位置,从而引起基因重排或产生新的基因。除转座本身对相邻基因的影响,在基因组中星罗棋布存在的 LINE-1 会增加不同基因之间的同源重组概率,并由此引发大片段的基因重复或缺失^[39~42]。这些现象在很大程度上会改变宿主基因的表达,从而对基因组的稳定性产生影响,最终引发各种各样的基因疾病。

1988 年世界上发现了首例由 LINE-1 插入而引起的基因疾病,该病例发生在一名血友病 A 男性患者,该患者 X 染色体中 VIII 因子基因的第 14 个外显子中由于 LINE-1 的转座插入,阻碍了 VIII 因子的合成,因而导致了血友病的发生^[43]。在此后的 20 多年里,相继又发现了 X-连锁视网膜色素变性、乙型地中海贫血等数十种由于 LINE-1 的转座而导致的基因疾病^[7]。

2 LINE-1 转座与肿瘤的发生与发展

由于 LINE-1 的复制和转座可导致基因疾病,研究人员很自然地考虑到 LINE-1 的转座与肿瘤的发生和发展是否相关这个问题上。实际上在首次发现 LINE-1 引起血友病病例的同年,来自美国的 Astrin 团队就报道了在一例由 LINE-1 的转座而引起的 MYC 癌基因的重排和扩增,最终导致乳腺导管腺癌的病例^[44]。这是第一例证明 LINE-1 的转座可以通过激活原癌基因致癌的病例。在四年以后的 1992 年,日本的 Nakamura 小组又报道了 LINE-1 转座插入 APC 抑癌基因的最后一个外显子,从而使 APC 基因失活,最终导致结肠癌的病例^[45]。这是第一例证明 LINE-1 转座可以通过失活抑癌基因而致癌的病例。这两个小组的研究结果为 LINE-1 转座导致肿瘤提

供了直接的证据。

但由于当时对 LINE-1 检测的分子生物学手段有限且较为繁琐,加之当时对 LINE-1 的检测并没有给予足够的重视,所以在此后的 10 多年里,在 LINE-1 转座导致肿瘤的研究方面没有再出现过其他令人振奋的研究进展。近年来,分子生物学技术的发展开启了 LINE-1 与肿瘤研究的新篇章。

2.1 LINE-1 在肿瘤组织中的表达及可能的致癌机制

近年来,随着靶向二代测序分析以及其他针对 LINE-1 检测方法的建立和发展,在多种肿瘤和癌变组织中发现了大量 LINE-1 转座的证据,如结肠癌^[46,47]、肺癌^[48]、前列腺癌^[47]、卵巢癌^[47]和肝癌^[49]等。其中具有代表性的是 Scott E. Devine 和 Peter J. Park 所领导的两个研究小组的工作。前者通过对 20 个早期肺癌样品进行 LINE-1 插入位点的靶向测序,在其中 6 个样品中发现 9 个肿瘤特异的 LINE-1 插入^[48]。后者则通过对多种肿瘤组织的全基因组研究,在结肠癌、前列腺癌和卵巢癌中发现 183 个 LINE-1 插入,其中每种肿瘤的 LINE-1 插入数不等,卵巢癌的平均数为 4 个,而在一个结肠癌中竟多达 106 个。在这些样本中所检测到的 LINE-1 插入绝大多数都是 5'端严重缺失的,可能反映了宿主细胞对 LINE-1 转座过程的强烈抑制^[47]。另一方面,在被检测的样本中 LINE-1 的插入都会引起相应的基因突变或下调,提示这种方式可能是 LINE-1 转座致癌的原因之一。

多个研究小组还报道了在 p53 基因突变的肿瘤组织中 LINE-1 的转座与表达较为活跃。有学者认为在正常细胞中 p53 对 LINE-1 转座所造成的双链 DNA 的断裂有监控作用。当 LINE-1 的转座趋于频繁时就会启动 p53 介导的一系列反应,甚至引起细胞凋亡。而在 p53 突变或缺陷的肿瘤组织中,LINE-1 则可逃避这些由 p53 所介导的通路,从而大量地复制和转座^[13,16,50,51]。

然而,LINE-1 转座致癌的机制似乎不仅限于此。2014 年, Lau 等^[52]在研究由慢性 HBV 发展成为癌症的病例时,发现了一种 LINE-1 致癌的新机制。慢性 HBV 感染会引起肝炎和肝损伤,进而引起肝纤维化和肝硬化,最后会发展成原发性肝癌。HBV 可整合入人的基因组,这一点和肝癌的发生有关,在 85%~90% 的 HBV 相关肝癌中都至少有一个 HBV 融合位

点^[53]。最初, 普遍认为 HBV 的整合是随机发生的。近期通过高通量二代测序发现 HBV 的周期性插入位点一般位于重复非编码序列的内部或附近, 例如 LINE-1 和 SINEs 附近^[54]。该实验室从 HBV 阳性原发性肝癌细胞系入手, 在 8 号染色体短臂(Chr.8p11)上的 HBV 插入位点发现了一段病毒-LINE-1 的整合序列, 该序列在 HBx 的启动下可转录出 HBx-LINE-1 嵌合 RNA。在所有受检的原发性肝癌患者中, 有 23.3% 检测到了 HBx-LINE-1 的转录产物, 并且这些患者的生存期更短。接下来的一系列体外实验排除了 HBx-LINE-1 的转录产物编码蛋白以及 microRNA 的可能性, 最终证明它转录出的是一段长非编码 RNA (lncRNA), 而这种具有高度组织特异性的 lncRNA 通过诱导上皮-间质转化(EMT)促进了癌变细胞的迁移和侵袭。这表明 LINE-1 的转座除了能够影响到插入位点附近的基因活性以外, 还可以通过产生非编码 RNA 来调控其他肿瘤相关的基因表达, 最终导致肿瘤的发生。

2.2 LINE-1 编码的组分在肿瘤细胞中的表达

正常的成人组织不会检测到 LINE-1 mRNA 及其所编码的蛋白^[55,56], 而特定的肿瘤细胞 LINE-1 mRNA 及其蛋白的表达水平会明显增强。在一些上皮细胞癌中, 例如肾癌、卵巢癌、肺癌和前列腺癌中, 可检测到 LINE-1 mRNA^[57], 这表明 LINE-1 已经摆脱了宿主细胞对其控制, 开始了复制和转座。这种 LINE-1 的脱抑制现象往往反映了较深的癌变程度, 例如在胰腺导管腺癌中, 高水平的 LINE-1 RNA 伴随着较深程度的病变和较差的预后^[58]。

由于 LINE-1 所编码的核蛋白 ORF1 的量比其所编码的逆转录酶 ORF2 高近百倍, 所以有研究小组就使用免疫组化的方法对肿瘤组织中的 ORF1 蛋白进行检测, 发现只有在恶性化程度很高的癌变组织中才能检测出 ORF1 的表达, 而在正常组织或恶性化程度较低的肿瘤组织中检测不到^[50]。ORF1 蛋白的检出与癌变组织恶性化的高度一致性使其有可能成为鉴别肿瘤恶性化程度的标志物分子^[59]。

ORF2 编码的逆转录酶是支持 LINE-1 转座的重要成分。以前认为它没有别的功能, 然而现在有很多证据表明内源性的逆转录酶参与了多种生理病理

途径。实际上, 虽然正常的体细胞中只有极低水平的逆转录酶的表达, 但是发育旺盛的胚胎中则呈现高水平的逆转录酶活性^[54,60]。研究表明, ORF2 的表达是 LINE-1 影响基因组稳定性的一个重要因素。ORF2 的表达不仅会诱发转座相关的突变, 而且会影响到整个细胞调控网络的正常运行^[40]。

有研究表明用非核苷类逆转录酶抑制剂(如奈韦拉平和依法韦仑)处理肿瘤细胞系后, 肿瘤细胞的增殖速率降低, 但作为对照的正常细胞则不会。用药后肿瘤细胞的分化程度得以恢复, 贴壁能力也发生了改观^[61~63]。与此同时, 其他研究小组使用了针对 LINE-1 ORF2 的 siRNA 对肿瘤细胞进行处理, 对其编码的逆转录酶进行沉默, 也获得了同样的结果。所有这些结果都反映了 LINE-1 所编码的逆转录酶在肿瘤细胞生长过程中的关键作用^[63,64]。

在一项研究中, 研究者发现在黑素瘤细胞中可检测到正常细胞中检测不到的 RNA :DNA 杂交分子, 而用依法韦仑处理该细胞后, 这种 RNA :DNA 杂交分子会消失, 与此同时该细胞蛋白编码 RNA、miRNA 和 lncRNAs 都会发生较明显的改变^[65]。这提示 LINE-1 编码的逆转录酶可能通过逆转录产生 DNA, 与细胞中具有调控功能的非编码 RNA 发生作用而产生 RNA-DNA 杂合分子从而调控后者在细胞中的量, 最终影响整个基因的表达谱。异常高水平的逆转录酶表达, 会使肿瘤细胞的转录组失衡。这种依赖逆转录酶的机制可以靶向很多转录物, 包括编码和非编码的, 正义及反义的, 这表明 LINE-1 编码的逆转录酶是肿瘤发生机制中的一个关键调控因子, 对细胞具有深刻的影响。

3 LINE-1 与肿瘤的检测和治疗

如上文所述, LINE-1 与肿瘤的发生有密切的联系, 在肿瘤细胞中 LINE-1 呈现出高表达状态, 因此它在未来有可能发展为肿瘤检测的标志物以及肿瘤治疗的靶点。

3.1 LINE-1 去甲基化在肿瘤检测中的意义

正常的体细胞对 LINE-1 的转座有着严格的控制, 在基因组中 LINE-1 所在的区域都是高度甲基化

的。而在肿瘤组织中, LINE-1 去甲基化现象是十分普遍的, 在临床肿瘤样本中 LINE-1 去甲基化也往往伴随着 LINE-1 RNA、ORF1 蛋白表达的增加以及 ORF2 活性的提高^[55~57], 这暗示着宿主细胞在转录水平上对 LINE-1 的控制能力的减弱所伴随的 LINE-1 的转录^[66]。在上皮性卵巢癌^[67]、结肠癌^[68]和子宫内膜癌^[69]等多种肿瘤组织和癌变组织中, LINE-1 的甲基化程度都远远低于正常组织, 而且甲基化程度越低往往预示着肿瘤的恶性化程度越高。在一些尚未发生癌变表型或早期癌变的组织中, LINE-1 的甲基化程度也较正常组织低^[70], 这为早期诊断或提早发现癌变提供了重要的线索。另外, 考虑到早期检测的可操作性, 一些研究小组对血细胞中 LINE-1 的甲基化程度与癌变的关系也进行了相应的分析和检测, 并取得了一些进展^[71~73]。肿瘤细胞中 LINE-1 去甲基化现象的普遍存在还提示人们在肿瘤的治疗过程中去甲基化药物的使用需要慎重: 这一类药物往往针对于局部基因尤其是抑癌基因启动子超甲基化而引起的肿瘤或癌症的治疗。但是它的去甲基化作用却是对整个基因组起着广泛的作用, 由于缺乏靶向性, 很容易激活包括 LINE-1 在内受细胞控制的基因。

3.2 逆转录酶抑制剂在抗肿瘤中的应用

在对 LINE-1 及其致癌机制不断地深入研究过程中, 不同的研究小组也开始尝试通过抑制 LINE-1 来达到抗肿瘤的目的, 而这些研究的首选靶点都集中在 LINE-1 所编码的逆转录酶, 这意味着逆转录酶抑制剂可以用于非细胞毒性的肿瘤治疗。由于人体中的端粒酶也具有逆转录酶活性, 而抑制肿瘤中端粒酶活性, 也可以抑制肿瘤细胞的生长, 但是端粒酶只对靶向特异的抑制剂敏感, 而对非核苷类抑制剂(如奈韦拉平和依法韦仑)并不敏感。同时, 端粒酶抑制剂控制肿瘤生长的作用较为缓慢, 需要经过几轮的细胞分裂, 这也与端粒代谢过程相一致。因此, 非核苷类抑制剂的抗肿瘤作用是通过抑制 LINE-1 编码的逆转录酶来实现的。

无论是在细胞实验中还是动物模型中, 逆转录酶抑制剂都具有抑制肿瘤细胞增殖和促进其分化的作用。在对包括黑色素瘤、前列腺癌、结肠癌、肺癌以及急性骨髓白血病等细胞使用逆转录酶抑制剂

和针对其 ORF2 的 siRNA 的效果来看, 这些抑制剂都能以剂量依赖的方式明显地抑制这些肿瘤细胞的生长^[61~63]。在动物实验中, 在对移植了人黑色素瘤细胞的小鼠用依法韦仑进行治疗, 明显地限制了肿瘤的发展。在另一个实验中, 用 siRNA 介导 LINE-1 的下调可大幅度地降低裸鼠中肿瘤发生的可能性^[64]。所有这些都为抗癌药物的研发提供了重要的线索。目前, 以逆转录酶蛋白和基因为肿瘤治疗靶点的研究所遇到的问题是: 逆转录酶抑制剂对肿瘤细胞的抑制作用具有可逆性, 当终止逆转录酶抑制剂后, 肿瘤细胞会恢复本来的增殖速率以及再次呈现去分化的状态^[63]。所以 LINE-1 的致癌机制还有待进一步深入的研究, 而长效、低毒、特异性地针对 LINE-1 ORF2 的逆转录酶抑制剂还有待开发。

4 结语与展望

越来越多的证据表明, 在占人类基因组 17% 并具有潜在自主转座活性的 LINE-1 是影响人类基因组稳定性的重要因素。在人类肿瘤细胞中会发生 LINE-1 的表达和转座, 表明 LINE-1 的转座与癌症有着密切的关系。即便 LINE-1 不是通过转座插入和 ORF2 造成的基因损伤来诱生肿瘤发生, 它可能在肿瘤发展的过程中促进相关基因表达, 对肿瘤发生发展所需要的人体内环境具有重要的调控作用。

针对 LINE-1 甲基化检测的应用以及针对 ORF2 的逆转录酶抑制剂的开发为肿瘤的检测和治疗提供了新的方法和新的思路。此外近些年通过对多种针对 LINE-1 的宿主限制因子如 MOV10、APOEBC3G 等蛋白的深入研究和新功能的不断发现, 使人们对宿主细胞在多层次、多方面打造的内在免疫系统有了更深的认识。这为通过调整细胞的内环境、激活细胞内固有的免疫系统抑制 LINE-1 的复制和转座, 最终达到对肿瘤和癌症的治疗作用的终极目的提供了新的思路。

参考文献(References):

- [1] Unwin N. The Croonian Lecture 2000. Nicotinic acetylcholine receptor and the structural basis of fast synaptic transmission. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2000, 355(1404): 1813–1829.[DOI]

- [2] McClintock B. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1950, 36(6): 344–355. [DOI]
- [3] Goodier JL, Kazazian HH Jr. Retrotransposons revisited: the restraint and rehabilitation of parasites. *Cell*, 2008, 135(1): 23–35. [DOI]
- [4] Bao WD, Kojima KK, Kohany O. Repbase Update, a database of repetitive elements in eukaryotic genomes. *Mob DNA*, 2015, 6: 11. [DOI]
- [5] Blikstad V, Benachenhou F, Sperber GO, Blomberg J. Endogenous retroviruses-evolution of human endogenous retroviral sequences: a conceptual account. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(21): 3348–3365. [DOI]
- [6] Belancio VP, Hedges DJ, Deininger P. Mammalian non-LTR retrotransposons: for better or worse, in sickness and in health. *Genome Res*, 2008, 18(3): 343–358. [DOI]
- [7] Beck CR, García-Perez JL, Badge RM, Moran JV. LINE-1 elements in structural variation and disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2011, 12: 187–215. [DOI]
- [8] Swergold GD. Identification, characterization, and cell specificity of a human LINE-1 promoter. *Mol Cell Biol*, 1990, 10(12): 6718–6729. [DOI]
- [9] Severynse DM, Hutchison CA 3rd, Edgell MH. Identification of transcriptional regulatory activity within the 5' A-type monomer sequence of the mouse LINE-1 retroposon. *Mamm Genome*, 1992, 2(1): 41–50. [DOI]
- [10] Feng QH, Moran JV, Kazazian HH Jr, Boeke JD. Human L1 retrotransposon encodes a conserved endonuclease required for retrotransposition. *Cell*, 1996, 87(5): 905–916. [DOI]
- [11] Martin SL, Li JF, Epperson LE, Lieberman B. Functional reverse transcriptases encoded by A-type mouse LINE-1: defining the minimal domain by deletion analysis. *Gene*, 1998, 215(1): 69–75. [DOI]
- [12] Moran JV, Holmes SE, Naas TP, DeBerardinis RJ, Boeke JD, Kazazian HH Jr. High frequency retrotransposition in cultured mammalian cells. *Cell*, 1996, 87(5): 917–927. [DOI]
- [13] Belgnaoui SM, Gosden RG, Semmes OJ, Haoudi A. Human LINE-1 retrotransposon induces DNA damage and apoptosis in cancer cells. *Cancer Cell Int*, 2006, 6: 13. [DOI]
- [14] Babushok DV, Kazazian HH Jr. Progress in understanding the biology of the human mutagen LINE-1. *Hum Mutat*, 2007, 28(6): 527–539. [DOI]
- [15] Farkash EA, Kao GD, Horman SR, Luning Prak ET. Gamma radiation increases endonuclease-dependent L1 retrotransposition in a cultured cell assay. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(4): 1196–1204. [DOI]
- [16] Gasior SL, Wakeman TP, Xu B, Deininger PL. The human LINE-1 retrotransposon creates DNA double-strand breaks. *J Mol Bio*, 2006, 357(5): 1383–1393. [DOI]
- [17] Denli AM, Narvaiza I, Kerman BE, Pena M, Benner C, Marchetto MCN, Diedrich JK, Aslanian A, Ma J, Moresco JJ, Moore L, Hunter T, Saghatelian A, Gage FH. Primate-specific ORF0 contributes to retrotransposon-mediated diversity. *Cell*, 2015, 163(3): 583–593. [DOI]
- [18] Yoder JA, Walsh CP, Bestor TH. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends Genet*, 1997, 13(8): 335–340. [DOI]
- [19] Bourc'his D, Bestor TH. Meiotic catastrophe and retrotransposon reactivation in male germ cells lacking Dnmt3L. *Nature*, 2004, 431(7004): 96–99. [DOI]
- [20] Kato Y, Kaneda M, Hata K, Kumaki K, Hisano M, Kohara Y, Okano M, Li E, Nozaki M, Sasaki H. Role of the Dnmt3 family in de novo methylation of imprinted and repetitive sequences during male germ cell development in the mouse. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(19): 2272–2280. [DOI]
- [21] Branciforte D, Martin SL. Developmental and cell type specificity of LINE-1 expression in mouse testis: implications for transposition. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(4): 2584–2592. [DOI]
- [22] Kano H, Godoy I, Courtney C, Vetter MR, Gerton GL, Ostertag EM, Kazazian HH Jr. L1 retrotransposition occurs mainly in embryogenesis and creates somatic mosaicism. *Genes Dev*, 2009, 23(11): 1303–1312. [DOI]
- [23] Garcia-Perez JL, Marchetto MCN, Muotri AR, Coufal NG, Gage FH, O'Shea KS, Moran JV. LINE-1 retrotransposition in human embryonic stem cells. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(13): 1569–1577. [DOI]
- [24] van den Hurk JAJM, Meij IC, Seleme MC, Kano H, Nikopoulos K, Hoefsloot LH, Sistermans EA, de Wijs IJ, Mukhopadhyay A, Plomp AS, de Jong PTVM, Kazazian HH, Cremers FPM. L1 retrotransposition can occur early in human embryonic development. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(13): 1587–1592. [DOI]
- [25] Chiu YL, Greene WC. The APOBEC3 cytidine deaminases: an innate defensive network opposing exogenous retroviruses and endogenous retroelements. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 317–353. [DOI]
- [26] Narvaiza I, Linfesty DC, Greener BN, Hakata Y, Pintel DJ, Logue E, Landau NR, Weitzman MD. Deaminase-independent inhibition of parvoviruses by the APOBEC3A cytidine deaminase. *PLoS Pathog*, 2009, 5(5): e1000439. [DOI]

- [27] Renard M, Henry M, Guétard D, Vartanian JP, Wain-Hobson S. APOBEC1 and APOBEC3 cytidine deaminases as restriction factors for hepadnaviral genomes in non-humans in vivo. *J Mol Biol*, 2010, 400(3): 323–334. [DOI]
- [28] Bogerd HP, Wiegand HL, Hulme AE, Garcia-Perez JL, Sue O'Shea K, Moran JV, Cullen BR. Cellular inhibitors of long interspersed element 1 and Alu retrotransposition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(23): 8780–8785. [DOI]
- [29] Esnault C, Millet J, Schwartz O, Heidmann T. Dual inhibitory effects of APOBEC family proteins on retrotransposition of mammalian endogenous retroviruses. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(5): 1522–1531. [DOI]
- [30] Chen H, Lilley CE, Yu Q, Lee DV, Chou J, Narvaiza I, Landau NR, Weitzman MD. APOBEC3A is a potent inhibitor of adeno-associated virus and retrotransposons. *Curr Biol*, 2006, 16(5): 480–485. [DOI]
- [31] Li XY, Zhang JY, Jia R, Cheng V, Xu X, Qiao WT, Guo F, Liang C, Cen S. The MOV10 helicase inhibits LINE-1 mobility. *J Biol Chem*, 2013, 288(29): 21148–21160. [DOI]
- [32] Arjan-Odedra S, Swanson CM, Sherer NM, Wolinsky SM, Malim MH. Endogenous MOV10 inhibits the retrotransposition of endogenous retroelements but not the replication of exogenous retroviruses. *Retrovirology*, 2012, 9: 53. [DOI]
- [33] Goodier JL, Cheung LE, Kazazian HH Jr. MOV10 RNA helicase is a potent inhibitor of retrotransposition in cells. *PLoS Genet*, 2012, 8(10): e1002941. [DOI]
- [34] Hu SQ, Li J, Xu FW, Mei S, Le Duff Y, Yin LJ, Pang XJ, Cen S, Jin Q, Liang C, Guo F. SAMHD1 Inhibits line-1 retrotransposition by promoting stress granule formation. *PLoS Genet*, 2015, 11(7): e1005367. [DOI]
- [35] Zhao K, Du J, Han X, Goodier JL, Li P, Zhou XH, Wei W, Evans SL, Li LZ, Zhang WY, Cheung LE, Wang GJ, Kazazian HH Jr, Yu XF. Modulation of LINE-1 and Alu/SVA retrotransposition by Aicardi-Goutières syndrome-related SAMHD1. *Cell Rep*, 2013, 4(6): 1108–1115. [DOI]
- [36] Goodier JL, Pereira GC, Cheung LE, Rose RJ, Kazazian HH Jr. The broad-spectrum antiviral protein ZAP restricts human retrotransposition. *PLoS Genet*, 2015, 11(5): e1005252. [DOI]
- [37] Van Meter M, Kashyap M, Rezazadeh S, Geneva AJ, Morello TD, Seluanov A, Gorbunova V. SIRT6 represses LINE1 retrotransposons by ribosylating KAP1 but this repression fails with stress and age. *Nat Commun*, 2014, 5: 5011. [DOI]
- [38] Roman AC, Benítez DA, Carvajal-Gonzalez JM, Fernandez-Salguero PM. Genome-wide B1 retrotransposon binds the transcription factors dioxin receptor and Slug and regulates gene expression *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(5): 1632–1637. [DOI]
- [39] Gilbert N, Lutz-Prigge S, Moran JV. Genomic deletions created upon LINE-1 retrotransposition. *Cell*, 2002, 110(3): 315–325. [DOI]
- [40] Symer DE, Connelly C, Szak ST, Caputo EM, Cost GJ, Parmigiani G, Boeke JD. Human I1 retrotransposition is associated with genetic instability *in vivo*. *Cell*, 2002, 110(3): 327–338. [DOI]
- [41] Miné M, Chen JM, Brivet M, Desguerre I, Marchant D, de Lonlay P, Bernard A, Férec C, Abitbol M, Ricquier D, Marsac C. A large genomic deletion in the PDHX gene caused by the retrotranspositional insertion of a full-length LINE-1 element. *Hum Mutat*, 2007, 28(2): 137–142. [DOI]
- [42] Takasu M, Hayashi R, Maruya E, Ota M, Imura K, Kougo K, Kobayashi C, Saji H, Ishikawa Y, Asai T, Tokunaga K. Deletion of entire HLA-A gene accompanied by an insertion of a retrotransposon. *Tissue Antigens*, 2007, 70(2): 144–150. [DOI]
- [43] Kazazian HH Jr., Wong C, Youssoufian H, Scott AF, Phillips DG, Antonarakis SE. Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature*, 1988, 332(6160): 164–166. [DOI]
- [44] Morse B, Rotherg PG, South VJ, Spandorfer JM, Astrin SM. Insertional mutagenesis of the myc locus by a LINE-1 sequence in a human breast carcinoma. *Nature*, 1988, 333(6168): 87–90. [DOI]
- [45] Miki Y, Nishishio I, Horii A, Miyoshi Y, Utsunomiya J, Kinzler KW, Vogelstein B, Nakamura Y. Disruption of the APC gene by a retrotransposal insertion of L1 sequence in a colon cancer. *Cancer Res*, 1992, 52(3): 643–645. [DOI]
- [46] Solyom S, Ewing AD, Rahrmann EP, Doucet T, Nelson HH, Burns MB, Harris RS, Sigmon DF, Casella A, Erlanger B, Wheelan S, Upton KR, Shukla R, Faulkner GJ, Largaespada DA, Kazazian HH Jr. Extensive somatic L1 retrotransposition in colorectal tumors. *Genome Res*, 2012, 22(12): 2328–2338. [DOI]
- [47] Lee E, Iskow R, Yang LX, Gokcumen O, Haseley P, Luquette LJ III, Lohr JG, Harris CC, Ding L, Wilson RK, Wheeler DA, Gibbs RA, Kucherlapati R, Lee C, Kharchenko PV, Park PJ. Landscape of somatic retrotransposition in human cancers. *Science*, 2012, 337(6097): 967–971. [DOI]
- [48] Iskow RC, McCabe MT, Mills RE, Torene S, Stephen

- Pittard W, Neuwald AF, Van Meir EG, Vertino PM, Devine SE. Natural mutagenesis of human genomes by endogenous retrotransposons. *Cell*, 2010, 141(7): 1253–1261. [DOI]
- [49] Shukla R, Upton KR, Muñoz-Lopez M, Gerhardt DJ, Fisher ME, Nguyen T, Brennan PM, Kenneth Baillie J, Collino A, Ghisletti S, Sinha S, Iannelli F, Radaelli E, Dos Santos A, Rapoud D, Guettier C, Samuel D, Natoli G, Carninci P, Ciccarelli FD, Garcia-Perez JL, Faivre J, Faulkner GJ. Endogenous retrotransposition activates oncogenic pathways in hepatocellular carcinoma. *Cell*, 2013, 153(1): 101–111. [DOI]
- [50] Rodić N, Sharma R, Sharma R, Zampella J, Dai LX, Taylor MS, Hruban RH, Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Torbenson MS, Goggins M, Shih IM, Duffield AS, Montgomery EA, Gabrielson E, Netto GJ, Lotan TL, De Marzo AM, Westra W, Binder ZA, Orr BA, Gallia GL, Eberhart CG, Boeke JD, Harris CR, Burns KH. Long interspersed element-1 protein expression is a hallmark of many human cancers. *Am J Pathol*, 2014, 184(5): 1280–1286. [DOI]
- [51] Wallace NA, Belancio VP, Deininger PL. L1 mobile element expression causes multiple types of toxicity. *Gene*, 2008, 419(1–2): 75–81. [DOI]
- [52] Lau CC, Sun TT, Ching AKK, He M, Li JW, Wong AM, Co NN, Chan AWH, Li PS, Lung RWM, Tong JHM, Lai PBS, Chan HLY, To KF, Chan TF, Wong N. Viral-human chimeric transcript predisposes risk to liver cancer development and progression. *Cancer cell*, 2014, 25(3): 335–349. [DOI]
- [53] Bréchet C, Gozuacik D, Murakami Y, Paterlini-Bréchet P. Molecular bases for the development of hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC). *Semin Cancer Biol*, 2000, 10(3): 211–231. [DOI]
- [54] Ding D, Lou XY, Hua DS, Yu W, Li LS, Wang J, Gao F, Zhao N, Ren GP, Li LJ, Lin BY. Recurrent targeted genes of hepatitis B virus in the liver cancer genomes identified by a next-generation sequencing-based approach. *PLoS Genet*, 2012, 8(12): e1003065. [DOI]
- [55] Harris CR, Normart R, Yang QF, Stevenson E, Haffty BG, Ganesan S, Cordon-Cardo C, Levine AJ, Tang LH. Association of nuclear localization of a long interspersed nuclear element-1 protein in breast tumors with poor prognostic outcomes. *Genes Cancer*, 2010, 1(2): 115–124. [DOI]
- [56] Su YH, Davies S, Davis M, Lu H, Giller R, Krailo M, Cai QY, Robison L, Shu XO. Children's Oncology Group. Expression of LINE-1 p40 protein in pediatric malignant germ cell tumors and its association with clinicopathological parameters: a report from the Children's Oncology Group. *Cancer letter*, 2007, 247(2): 204–212. [DOI]
- [57] Belancio VP, Roy-Engel AM, Pochampally RR, Deininger P. Somatic expression of LINE-1 elements in human tissues. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(12): 3909–3922. [DOI]
- [58] Ting DT, Lipson D, Paul S, Brannigan BW, Akhavanfard S, Coffman EJ, Contino G, Deshpande V, Iafrate AJ, Letovsky S, Rivera MN, Bardeesy N, Maheswaran S, Haber DA. Aberrant overexpression of satellite repeats in pancreatic and other epithelial cancers. *Science*, 2011, 331(6017): 593–596. [DOI]
- [59] Matsunoki A, Kawakami K, Kotake M, Kaneko M, Kitamura H, Ooi A, Watanabe G, Minamoto T. LINE-1 methylation shows little intra-patient heterogeneity in primary and synchronous metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*, 2012, 12: 574. [DOI]
- [60] Sciamanna I, Vitullo P, Curatolo A, Spadafora C. A reverse transcriptase-dependent mechanism is essential for murine preimplantation development. *Genes*, 2011, 2(2): 360–373. [DOI]
- [61] Mangiacasale R, Pittoggi C, Sciamanna I, Careddu A, Mattei E, Lorenzini R, Travaglini L, Landriscina M, Barone C, Nervi C, Lavia P, Spadafora C. Exposure of normal and transformed cells to nevirapine, a reverse transcriptase inhibitor, reduces cell growth and promotes differentiation. *Oncogene*, 2003, 22(18): 2750–2761. [DOI]
- [62] Landriscina M, Fabiano A, Altamura S, Bagalà C, Piscazzi A, Cassano A, Spadafora C, Giorgino F, Barone C, Cignarelli M. Reverse transcriptase inhibitors down-regulate cell proliferation in vitro and in vivo and restore thyrotropin signaling and iodine uptake in human thyroid anaplastic carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(10): 5663–5671. [DOI]
- [63] Sciamanna I, Landriscina M, Pittoggi C, Quirino M, Mearelli C, Beraldi R, Mattei E, Serafino A, Cassano A, Sinibaldi-Vallebona P, Garaci E, Barone C, Spadafora C. Inhibition of endogenous reverse transcriptase antagonizes human tumor growth. *Oncogene*, 2005, 24(24): 3923–3931. [DOI]
- [64] Oricchio E, Sciamanna I, Beraldi R, Tolstonog GV, Schumann GG, Spadafora C. Distinct roles for LINE-1 and HERV-K retroelements in cell proliferation, differentiation and tumor progression. *Oncogene*, 2007, 26(29): 4226–4233. [DOI]
- [65] Sciamanna I, Gualtieri A, Cossetti C, Osimo EF, Ferracin M, Macchia G, Aricò E, Prosseda G, Vitullo P, Misteli T,

- Spadafora C. A tumor-promoting mechanism mediated by retrotransposon-encoded reverse transcriptase is active in human transformed cell lines. *Oncotarget*, 2013, 4(12): 2271–2287. [DOI]
- [66] Weber B, Kimhi S, Howard G, Eden A, Lyko F. Demethylation of a LINE-1 antisense promoter in the cMet locus impairs Met signalling through induction of illegitimate transcription. *Oncogene*, 2010, 29(43): 5775–5784. [DOI]
- [67] Pattamadilok J, Huapai N, Rattanatanyong P, Vasurattana A, Triratanachai S, Tresukosol D, Mutirangura A. LINE-1 hypomethylation level as a potential prognostic factor for epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18(4): 711–717. [DOI]
- [68] Sunami E, de Maat M, Vu A, Turner RR, Hoon DSB. LINE-1 hypomethylation during primary colon cancer progression. *PloS One*, 2011, 6(4): e18884. [DOI]
- [69] Pavicic W, Joensuu EI, Nieminen T, Peltomäki P. LINE-1 hypomethylation in familial and sporadic cancer. *J Mol Med (Berl)*, 2012, 90(7): 827–835. [DOI]
- [70] Antelo M, Balaguer F, Shia J, Shen Y, Hur K, Moreira L, Cuatrecasas M, Bujanda L, Giraldez MD, Takahashi M, Cabanne A, Barugel ME, Arnold M, Roca EL, Andreu M, Castellvi-Bel S, Llor X, Jover R, Castells A, Boland CR, Goel A. A high degree of LINE-1 hypomethylation is a unique feature of early-onset colorectal cancer. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45357. [DOI]
- [71] Gao Y, Baccarelli A, Shu XO, Ji BT, Yu K, Tarantini L, Yang G, Li HL, Hou L, Rothman N, Zheng W, Gao YT, Chow WH. Blood leukocyte Alu and LINE-1 methylation and gastric cancer risk in the Shanghai Women's Health Study. *Br J Cancer*, 2012, 106(3): 585–591. [DOI]
- [72] Neale RE, Clark PJ, Fawcett J, Fritschi L, Nagler BN, Risch HA, Walters RJ, Crawford WJ, Webb PM, Whiteman DC, Buchanan DD. Association between hypermethylation of DNA repetitive elements in white blood cell DNA and pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol*, 2014, 38(5): 576–582. [DOI]
- [73] Patchsung M, Boonla C, Amnattrakul P, Dissayabutra T, Mutirangura A, Tosukhowong P. Long interspersed nuclear element-1 hypomethylation and oxidative stress: correlation and bladder cancer diagnostic potential. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37009. [DOI]

(责任编辑: 吴晨)