

• 综述 •

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.07.03

人巨细胞病毒编码 miRNA 功能及其作用机制

唐琦, 吴鹏, 李国辉*

(江苏大学生命科学研究院, 江苏 镇江 212013)

摘要 人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是疱疹病毒 β 亚科中的代表成员之一,是一种具有囊膜包裹的DNA双链病毒,对免疫耐受群体和先天性感染的婴幼儿具有很高的发病率。HCMV具有潜伏感染和裂解感染两种感染状态。这两种感染过程中均有不同的miRNA表达模式。这些miRNA不仅参与胞内宿主或病毒自身基因表达调控与病毒复制,也能调节胞内物质的转运和病毒感染状态的转变等过程。本文就HCMV编码的miRNA,其生物合成机制和生物学功能进行简要综述,为深入研究其生物功能和作用机制奠定基础。

关键词 疱疹病毒; 人巨细胞病毒; miRNA; 潜伏感染; 裂解感染
中图分类号

The Biological Function and Mechanism of Human Cytomegalovirus-Encoded miRNAs

TANG Qi, WU Peng, LI Guo-Hui*

(Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu, China)

Abstract Human cytomegalovirus (HCMV) is a representative of *Betaherpesvirinae* subfamily, which is an enveloped, double-stranded DNA virus with large genome. HCMV infection causes morbidity and mortality in immunosuppressed patients and congenital infected neonates. HCMV is characterized by the latent infection and lytic infection in the viral life cycle, and the miRNA expression pattern shows significant difference between latent infection and lytic infection. The miRNAs plays key roles in various biological processes such as gene expression regulation, viral replication, transition from latent infection to lytic infection, and vesicle trafficking. This review summarizes the miRNAs encoded by HCMV, the biosynthesis mechanism and their roles in viral life cycle. This review will be helpful for further research of the functions and action mechanism of HCMV-encoded miRNAs.

Key words herpesvirus; human cytomegalovirus (HCMV); miRNA; latency infection; lytic infection

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)属于人疱疹病毒 β 亚科,是一种具有囊膜包被的线性的双链DNA病毒。该病毒能够长期潜伏在宿主细胞中,仅少量的病毒基因得到表达,胞内不产生感染性的病毒粒子,也没有临床症状的表现^[1]。在特定条件下,HCMV能被激活进入裂解周期,并产生大量具有感染性的病毒粒子,诱导宿主细胞产生病变^[2]。人群中HCMV血清呈阳性比例很高,大多数人没有临床症状,而先天感染HCMV的新生儿中表现有临床症状的比例大约为13.5%,免疫力低下的人群感染HCMV会出现中央神经系统紊乱、小胶质细胞结节性脑炎等症状,孕妇感染HCMV将影响小孩的神经功能和听力,甚至导致孕妇流产^[3-5]。

2003年, Murphy等^[6]完成6株HCMV病毒株

收稿日期: 2017-12-19; 修回日期: 2018-01-28; 接受日期: 2018-03-13

国家自然科学基金(No. 31402016); 江苏大学高级人才启动基金(No. 14JDG026); 中国博士后基金(No. 2015M571675)

* 通讯作者 Tel: 86-511-88791702; E-mail: ghli@ujs.edu.cn

Received: December 19, 2017; Revised: January 28, 2018; Accepted: March 13, 2018

Supported by National Natural Science Foundation of China (No.31402016); Start-Up Research Funding of Jiangsu University (No. 14JDG026); China Postdoctoral Science Foundation funded project (No. 2015M571675)

* Corresponding author Tel: 86-511-88791702; E-mail: ghli@ujs.edu.cn

的基因组序列测定和分析,发现其核苷酸序列由 236 kb 组成,含有 252 个理论的开放阅读框,是疱疹病毒基因组中最大的一个成员。序列分析发现: HCMV 基因组中含有 1 个独特的长序列(U_L)和 1 个独特的短序列(U_S), U_L 和 U_S 之间由一些重复序列隔开,且 U_L 和 U_S 序列中分别含有数量不等的开放阅读框,病毒复制原点位于 UL57 和 UL69 基因序列之间^[7-8]。HCMV 能感染上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、干细胞、粒细胞和神经元等多种人体组织细胞,但在不同的细胞中具有不同的基因表达模式和病毒增殖速率^[9-10];Dunn 等^[8]曾利用上皮细胞对人 HCMV 基因功能进行了系统性的研究,鉴定 45 个病毒复制必须的基因和 117 病毒复制非必须基因。由此,HCMV 病毒生物学得到飞速发展。然而,到目前为止,对于人 HCMV 潜伏感染及其激活的分子机制仍不甚清楚。

目前,有研究表明,HCMV 编码的 miRNA 对病毒潜伏和维持发挥重要作用。自 Pfeffer 等^[11]首次在 EBV 病毒中鉴定到 miRNA 以来,现已在人疱疹病毒基因组中鉴定到 250 多种 miRNAs。它们可分别调控病毒和宿主基因的表达,从而对病毒复制、病毒潜伏和维持、细胞生存、宿主先天免疫或后天获得性免疫等多个方面进行调控^[12-13]。本文就 HCMV 编码的 miRNA 的生物合成、功能及其作用靶点进行综述,为促进 miRNA 调控 HCMV 潜伏和激活的分子机制,及其它疱疹病毒 miRNA 功能研究提供参考。

1 人巨细胞病毒编码的 miRNA

miRNAs 是一类短的、非编码的、长度为 22 ~ 26 个核苷酸组成的小分子单链 RNA。通过与靶标 mRNA 的 3'非翻译区或编码区之间进行碱基配对,若两者之间完全配对,则靶 mRNA 会发生降解;若两者之间只有部分区域发生了匹配,则削弱核糖体在靶 mRNA 链上蛋白质的合成效率,由此调控靶基因的表达^[14-15]。自 1993 年 Lee 等^[16]在秀丽新小杆线虫 (*Caenorhabditiselegans*) 中鉴定到第 1 个 miRNA-lin-4 以来,现已在植物、动物和病毒基因组中鉴定到数千种 miRNAs,它们在细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡、肿瘤转移、血管再生和个体发育等多方面起重要作用^[17-18]。目前,已在腺病毒、多瘤病毒、杆状病毒、虹彩病毒和疱疹病毒基因组中鉴定到 300 多种 miRNAs,其中大部分是由疱疹病毒基因组

所编码,它们在分子进化上无同源性,但能以时空和组织特异性的方式调控靶基因的表达,在疱疹病毒潜伏感染与维持过程中发挥重要作用^[19-22]。

感染 HCMV 的新生儿出现先天畸形和智力迟钝,且能在人体内建立终身潜伏感染状态,其潜伏感染分子机制至今仍不清楚。HCMV 基因组能够编码多个 miRNAs 分子,其中部分 miRNAs 已在体外得到证实,它们在膜泡转运、免疫逃逸、病毒潜伏感染和维持及细胞周期控制等方面起重要作用。2005 年 Dunn 等^[23]首次报道了 HCMV 编码的 miR-UL23-5p、miR-UL23-3p 和 miR-US24 三种 miRNAs;2012 年,Meshesha 等^[24]利用高通量测序技术联合 qPCR 技术分析 HCMV 基因组小分子 RNA 的表达模式,发现 4 种新的 miRNA 前体和 10 种新的 miRNAs 分子。至今,已有越来越多的 HCMV miRNA 被鉴定。到目前为止,miRBase 数据库里,可查到 HCMV 编码的 15 个茎环结构前体和 26 个成熟的 miRNA 序列;而最近的文献只报道 HCMV 基因组能产生 14 个茎环结构前体和 21 个成熟的 miRNA 序列^[25-26]。彼此在数据统计上存在少许出入。本文列 Table 1 将 HCMV 编码的 miRNAs 进行汇总。与疱疹病毒的其它亚家族成员不同,HCMV 编码的 miRNA 不是成簇地聚集在一起,而是分散排布在 HCMV 基因组中,并且该基因组中两条链都能编码 miRNA。尤其罕见的是,HCMV miR-UL36 被鉴定是从 UL36 基因中的一个内含子转录而来^[27]。该研究说明,内含子并不都是基因组中的冗余序列,它们可编码 miRNA 来调控靶基因的表达,或许也可充当顺式作用元件调控基因转录,其具体功能还有待于进一步研究。

2 人巨细胞病毒 miRNAs 生物合成分子机制

miRNA 编码基因广泛存在于动物、植物、病毒甚至单细胞生物中。它们经常被发现定位于紧密连锁的基因簇间隔区,通过 RNA 聚合酶 II 对 miRNA 基因进行转录,在细胞核中产生 miRNA 分子前体结构 (pri-miRNAs),其 5'-端含有 1 个帽和 1 个多聚腺苷酸尾结构^[32-33]。HCMV miRNA 前体先后由胞内 Drosha 和 Dicer 两种酶对其进行酶切,从而产生成熟的 miRNA 分子。首先,由 RNase III 家族中的 Drosha 对其进行酶切,产生长度为 60 ~ 80 nt 的 miRNAs 前体。该前体分子具有不完整的发卡状双链 RNA 结构。在 Exportin 5 (Exp5) 与 GTP 及 Ran 因子形成的复合物的协助下,将其从细胞核中转运

到细胞质中^[34-35];随后,胞质中的 Dicer 对其进行进一步的加工处理,将 pri-miRNAs 结构中的环状结构切除,从而产生 miRNA 双链分子结构中间体,信使链从双链中释放出来并发生降解。产生的成熟 miRNA 可充当向导链,被组装入多蛋白质的 RNA 诱导沉默复合物(RNA induced silencing complex,

Table 1 Experimental evidence for HCMV encoded miRNAs

miRNA precursors	HCMV miRNA	Northern blotting	Deep sequencing	qPCR	References
UL 22A	UL22 A-5p		Yes	Yes	[28]
	UL22 A-3p		Yes	Yes	[24]
UL 23	UL23-5p	Yes			[23]
	UL23-3p	Yes			[23]
UL 36	UL36-1	Yes	Yes	Yes	[27]
	UL36-5p				[24]
	UL36-3p				[24]
UL 70	UL70-1	Yes			[27]
	UL70-5p				[24]
	UL70-3p				[24]
UL 112	UL112-5p		Yes	Yes	[24]
	UL112-3p		Yes	Yes	[24, 29]
UL 148D	UL148D		Yes	Yes	[24]
US 4	US4-1	Yes			[27]
	US4-5p				[24, 29]
	US4-3p				[24]
US 5-1	US5-1-3p	Yes	Yes	Yes	[27, 24, 29]
US 5-2	US5-2-3p	Yes	Yes	Yes	[27, 24, 29]
US 22	US22	Yes			[30]
US 24	US 24	Yes			[23]
US 25-1	US25-1-5p		Yes	Yes	[24, 29, 31]
	US25-1-3p		Yes	Yes	[24]
US 25-2	US25-2-5p		Yes	Yes	[24, 29]
	US25-2-3p		Yes	Yes	[24, 29, 31]
US 33	US33as-5p		Yes	Yes	[24]
	US33as-3p		Yes	Yes	[24, 31]

尽管 HCMV 基因组比疱疹病毒其它成员基因组大,然而 mirbase 数据库 (<http://www.mirbase.org/>)中显示 HCMV 编码的 miRNA 远少于 EBV 编码的 44 个成熟的 miRNAs,当然不排除 HCMV 编码的部分 miRNA 表达丰度太低。目前的检测技术还难以鉴定它们,这种可能性还有待进一步的验证。另外,一些研究表明:一个成熟的 HCMV miRNA 可调控多个病毒或宿主 mRNA,或者多个 HCMV miRNA 可协同调控同一个靶标,对宿主体内靶基因的时空表达进行调控,从而在 HCMV 病毒复制、病毒潜伏感染的建立和维持、免疫逃逸等过程中发挥重要的作用。由此可见,HCMV 基因组编码的

RISC)中。该复合物引导 miRNA 链与其靶标发生作用。如果它们两者之间具有不完整的碱基配对,会显著降低核糖体在靶标 mRNA 链中合成蛋白质的效率;如果 miRNA-mRNA 两者之间具有完整的碱基配对,则信使 mRNA 链会发生降解^[36-37]。HCMV miRNAs 生物合成和作用机制见 Fig. 1 所示。

miRNA 作用途径与宿主 miRNA 的作用途径相互交织,在宿主体内组成了一个复杂的调控网络,进而共同维持宿主体内的动态稳定。

3 人巨细胞病毒 miRNAs 生物功能

尽管感染 HCMV 的人群中未见任何症状,然而,该感染可能与肿瘤、脑炎、实体器官与骨髓移植排斥反应,以及自身免疫疾病和宫内感染引发的先天性缺陷等严重的人类疾病相关。这些病理症状可能来源于该病毒的激活^[38-39]。目前,HCMV 潜伏感染分子机制仍不甚清楚,但病毒必须得限制自身基因的表达,控制感染性病毒粒子的产量才能建立潜

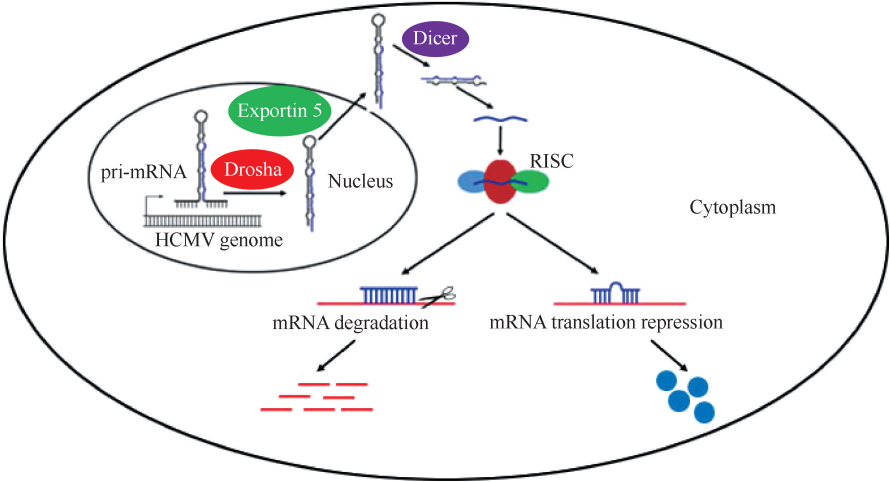


Fig. 1 Diagram of HCMV miRNA biogenesis and the action mechanism of mature miRNA HCMV-encoded pri-miRNAs generated in nucleus are subjected to enzymatic digestion by two enzymes of the RNase III family, Drosha and Dicer, to form a mature miRNA. The resulting miRNA acting as guide strand is incorporated into the multiprotein RNA-induced silencing complex (RISC), where direct their cleavage if miRNA-mRNA have a perfect match, or translational repression if miRNA-mRNA have an imperfect match

伏感染;其次,病毒必须监控和操纵宿主细胞中的生化环境,以利于病毒潜伏感染状态的维持;最后,病毒必须进化一套有效的生存策略,以便能够逃逸宿主先天或后天的免疫,来促进病毒的增殖和受感染细胞的存活。显然,HCMV 病毒与宿主细胞间存在着复杂的相互作用,从而来决定病毒的生存命运。这种作用主要体现在蛋白质网络调控方面,而 miRNA 已被证实在蛋白质表达调控方面起着非常重要的作用,以此来影响效应细胞的识别、细胞增殖、细胞因子分泌和胞内物质的转运等。

3.1 免疫逃逸

Stern-Ginossar 等^[40]曾利用 RepTar 生物信息程序,对 HCMV miRNA 靶标进行预测,发现主要组织相容性复合物 I 类相关 B 链(major histocompatibility complex class I-related chain B, MICB)是 HCMV miR-UL112 最可能的一个作用靶标。为了进一步证实该预测结果,通过在几种内源性表达 MICA 和 MICB 的人肿瘤细胞系中表达外源 miR-UL112。结果发现,miR-UL112 的表达能下调 MICB 的表达,但不影响 MICA 基因的表达;另外,将荧光报告素酶基因与 MICB 基因的 3'-UTR 区域进行融合。结果发现,miR-UL112 过表达降低了该酶的生物活性,而融合有 MICA 基因的 3'-UTR 区域对照中,荧光素酶的生物活性仍保持不变。这种 miRNA 介导 MICB 表达量的降低,很可能减少 NKG2D 介导对 MICB 蛋白的识别,以及自然杀伤细胞杀死病毒感染的细胞,从

而有利于受感染细胞的存活。RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted), 是对正常 T 细胞激活、表达和分泌进行调控的一种趋化因子,是一种分子量较小的分泌性淋巴因子,由 T 细胞所编码,能帮助自然杀伤细胞的激活和增殖。研究表明,HCMV 编码的 miR-UL148D 参与了对 RANTES 基因的表达调控,从而导致该基因的降解。而缺失 miR-UL148D 编码序列的突变病毒,则不能够抑制 RANTES 基因的表达^[41]。Kim 等^[42]报道,HCMV miR-US4-1 可调控 ERAP1 mRNA 的翻译水平,从而极大地降低了抗原的呈递,逃逸了宿主对其的监控和免疫。Toll 样受体 2 (TLR2)是 NFκB 信号途径中的一个主要病原识别受体。Landais 等^[43]报道,HCMV miR-UL112-3p 能下调 TLR2 基因的表达,从而抑制 NF-κB 信号途径。白细胞介素-32 参与先天免疫和后天获得性免疫反应过程,与人体几种炎症反应和自身免疫疾病密切相关。研究发现,HCMV miR-UL112-1 作用于 IL-32 mRNA3'-UTR 区域,下调该基因的表达,从而使该病毒发生体内免疫逃逸^[44]。

3.2 潜伏感染调控

潜伏感染是疱疹病毒生活周期中的一个典型特征。由于缺乏体外动物模型,给疱疹病毒潜伏感染的研究造成很大困难。尽管很多病毒和宿主因子与 HCMV 潜伏感染有关,然而该感染状态的分子机制仍不清楚^[45]。HCMV 潜伏感染开始于 HCMV 基因

组中极早期基因 *ie1* 的沉默,该病毒已进化出多种策略用来控制该基因的表达,从而维持 HCMV 的潜伏感染状态。目前,主要是利用单核细胞来鉴定该病毒潜伏感染所编码的一些 miRNA,并已取得了一些研究进展。

HCMV miRNA 表达模式的改变是病毒感染状态变化的一个特征。2016 年,Meshesha 等^[46]在病毒潜伏期,从单核细胞中鉴定到 8 种 miRNAs,其中 5 种定位于 HCMV 基因组 UL 区域,3 种定位于 HCMV 基因组 US 区域。且在病毒潜伏感染中,miR-US22-5p 和 miR-UL112-3p 的表达丰度最高;而 miR-US25-2-5p、miR-US29-5p、miR-US25-1-5p 和 miR-US25-2-5p 在 HCMV 感染的裂解期高表达。当病毒被激活后,miR-US25-2-5p、miR-US25-1-5p 和 miR-UL112-3p 三种 miRNAs 表达量显著提高。说明 HCMV 在不同的感染状态下,其基因组中 miRNA 表达模式显然不同。令人惊讶的是,HCMV miR-US29-5p 表达于病毒裂解期,其互补链 miR-US29-3p 表达于潜伏期,这也是第 1 次发现同 1 个 miRNA 前体在感染的不同时期产生 2 个成熟的 miRNA。推测与 HCMV 感染状态的转换紧密相关。另有研究发现,HCMV miR-UL148D 主要表达并累积在该病毒潜伏感染晚期。2016 年,Pan 等^[47]报道,miR-UL148D 有效地抑制宿主极早期反应基因 5 (*IER5*) 的表达,提高细胞增殖周期 25B (*CDC25B*) 基因的表达,从而促进该病毒进入潜伏感染状态。

HCMV 在体内的感染过程非常复杂且呈动态分布,涉及到胞内许多蛋白质与病毒因子间的相互作用。其中,HCMV miRNA 不仅在病毒感染及病毒感染状态的转换过程中起重要作用,也为病毒诊断、治疗和预后标志物提供全新的途径。除此之外,HCMV 也能利用宿主编码的 miRNA 来促进病毒的潜伏感染。2014 年,O'Connor 等^[48]报道,hsa-miR-200 miRNA 家族成员 Hsa-miR-200b、hsa-miR-200c 和 hsa-miR-429 作用于 *UL112* 基因(极早期蛋白 2 基因)3'非翻译区,从而抑制病毒极早期蛋白 2 基因的表达,促进病毒停留在潜伏感染状态。

3.3 调节囊泡转运

HCMV 编码的 miRNA 能作用于胞内囊泡运输途径中相关的宿主 mRNA,影响胞内膜泡复合物的组装和运输环境,抑制胞内炎症因子的分泌和胞内物质的转运,从而使 HCMV 逃逸病毒激活的先天性免疫反应,有利于提高病毒的增殖和产量。

ATP6V0C 是液泡 ATP 酶中的一个亚基,参与

V-ATPase 复合物的形成,能介导胞内细胞器酸化环境的形成。在胞内物质的分选、高效运输、细胞自噬和受体介导的内吞作用等方面发挥重要作用^[49]。2013 年,Pavelin 等^[50]通过 RISC-IP(RNA 诱导沉默复合物免疫共沉淀)对成纤维细胞内 HCMV 编码的 miRNA 作用靶标进行系统性地分离与鉴定。结果发现,miR-US25-1 能特异性地作用于宿主 *ATP6V0C* 基因转录本,调控该基因的表达,促进病毒的增殖;而利用 siRNA 技术对该基因进行 knock-down 之后,结果发现,完全阻断了胞内感染性病毒粒子的产生。表明 HCMV 编码的 miR-US25-1 特异性调控 *ATP6V0C* 基因的表达,推测该调控过程的异常会影响胞内膜泡的物质运输,切断病毒复制所需的物质运输途径,从而抑制了感染性病毒粒子的形成。

胞内物质运输和炎症细胞因子的分泌需要膜泡相关膜蛋白 3(vesicle-associated membrane protein3, VAMP3)、RAS 相关蛋白 5C(RAB5C)、RAS 相关蛋白 11 A(RAB11 A)、突触相关蛋白 23(SNAP23)和细胞分裂控制蛋白 42(CDC42)等蛋白质的作用。其中,VAMP3 和 RAB5C 与胞内炎症因子 IL-6 和 TNF- α 的分泌有关,RAB11 A、SNAP23 和 CDC42 与胞内膜泡运输有关。2014 年,Hook 等^[51]报道,VAMP3、RAB5C 和 RAB11 A 的 3'-UTR 区域是 HCMV miR-UL112-1 和 miR-US5-1 的作用靶标。SNAP23 和 CDC42 的 3'-UTR 区域是 HCMV miR-US5-2 的作用靶标。这种作用下调胞内运输或分泌途径中相关基因的表达水平,降低胞内的物质运输和细胞因子的分泌,而分泌途径中如高尔基体和内吞小室的重构,则有利于病毒组装区域的形成,促进感染性病毒粒子的产生。

4 问题与展望

分离并鉴定 HCMV 编码的 miRNA 是揭示该病毒感染和致病机制的一种有效手段。目前为止,已发现 HCMV 编码数量众多的 miRNA,它们功能呈多样性。不仅与病毒感染、复制、细胞周期控制和胞内物质运输等紧密相关,也调控一些肿瘤的发生和自身免疫性疾病的进展。然而,HCMV 编码的 miRNAs,其作用靶标及活性机制仍不完全清楚。目前,HCMV 分子生物学研究仍停留在实验室研究阶段,其研究成果仍未应用到病患者的诊断和治疗中。因此,对 HCMV 感染患者体内真实的 miRNA 表达谱进行鉴定,及其生物学功能及作用机制进行研究,将有助于揭示该病毒潜伏感染和激活的分子机制。

研究表明, HCMV 编码的 miRNA 以病毒和宿主的基因转录产物为作用靶标, 调控靶基因的时空表达, 限制病毒 DNA 的复制和增殖, 建立并维持病毒对人体的潜伏感染状态。尽管体外感染模型并不能精准地反应病毒 miRNA 在病毒潜伏感染与激活方面的作用, 然而与病毒 miRNA 相比, 宿主编码的 miRNA 具有高度的保守性, 且它们主要以胞内转录产物 mRNA 为作用靶标, 调控宿主细胞内病毒转录本的表达水平, 在一定程度上抑制了病毒的复制和增殖。该相互作用也被认为是广泛存在于生物体内的一种天然抗病毒机制, 有利于病毒的潜伏感染和维持。

鉴定 HCMV miRNA 的靶标, 对于认识病毒表型与其相对应的 miRNA 之间的关系非常重要, 也为深入研究病毒 miRNA 功能提供线索。随着靶点预测的精准和生物技术的不断改进, 越来越多的病毒和宿主 miRNA 被鉴定, 而高灵敏度的蛋白质组学方法, 将为 miRNA 功能解析提供可能。总之, 尽管 HCMV 编码的 miRNA 功能仍有待进一步研究, 但其与病毒感染、复制、免疫逃逸、肿瘤和自身免疫性疾病的发生和发展等方面都紧密相关。因此, 深入研究 HCMV 编码的 miRNA 功能, 将有助于揭示疾病的发生机制和临床上的应用。

参考文献 (References)

- [1] Goodrum F, Caviness K, Zagallo P. Human cytomegalovirus persistence[J]. Cell Microbiol, 2012, **14**(5):644-655
- [2] Feltner C, Grodensky C, Ebel C, et al. Serologic Screening for Genital Herpes: An Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force[J]. JAMA, 2016, **316**(23):2531-2543
- [3] Dollard SC, Grosse SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection[J]. Rev Med Virol, 2007, **17**(5):355-363
- [4] Kawasaki H, Kosugi I, Meguro S, et al. Pathogenesis of developmental anomalies of the central nervous system induced by congenital cytomegalovirus infection[J]. Pathol Int, 2017, **67**(2):72-82
- [5] Vide Tavares M, Domingues AP, Tavares M, et al. Cytomegalovirus: is there a place for screening during pregnancy? [J]. Acta Med Port, 2011, **24** Suppl 4:1003-1108
- [6] Murphy E, Yu D, Grimwood J, et al. Coding potential of laboratory and clinical strains of human cytomegalovirus[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, **100**(25):14976-14981
- [7] Zarrouk K, Piret J, Boivin G. Herpesvirus DNA polymerases: Structures, functions and inhibitors[J]. Virus Res, 2017, **234**:177-192
- [8] Dunn W, Chou C, Li H, et al. Functional profiling of a human cytomegalovirus genome[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, **100**(24):14223-14228
- [9] Sinzger C, Grefte A, Plachter B, et al. Fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells and smooth muscle cells are major targets of human cytomegalovirus infection in lung and gastrointestinal tissues[J]. J Gen Virol, 1995, **76**(Pt 4):741-750
- [10] Luo MH, Schwartz PH, Fortunato EA. Neonatal neural progenitor cells and their neuronal and glial cell derivatives are fully permissive for human cytomegalovirus infection[J]. J Virol, 2008, **82**(20):9994-10007
- [11] Pfeffer S, Zavolan M, Grässer FA, et al. Identification of virus-encoded microRNAs[J]. Science, 2004, **304**(5671):734-736
- [12] Boss IW, Plaisance KB, Renne R. Role of virus-encoded microRNAs in herpesvirus biology[J]. Trends Microbiol, 2009, **17**(12):544-553
- [13] Hook L, Hancock M, Landais I, et al. Cytomegalovirus microRNAs[J]. Curr Opin Virol, 2014, **7**:40-46
- [14] Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, et al. Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs[J]. Genes Dev, 2006, **20**(5):515-524
- [15] Afonso-Grunz F, Müller S. Principles of miRNA-mRNA interactions: beyond sequence complementarity[J]. Cell Mol Life Sci, 2015, **72**(16):3127-3141
- [16] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell, 1993, **75**(5):843-854
- [17] Mendell JT. MicroRNAs: critical regulators of development, cellular physiology and malignancy[J]. Cell Cycle, 2005, **4**(9):1179-1184
- [18] Li H, Zhang Z, Zhou X, et al. Effects of microRNA-143 in the differentiation and proliferation of bovine intramuscular preadipocytes[J]. Mol Biol Rep, 2011, **38**(7):4273-4280
- [19] Liu X, Happel C, Ziegelbauer JM. Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus MicroRNAs Target GADD45B To Protect Infected Cells from Cell Cycle Arrest and Apoptosis[J]. J Virol, 2017, **91**(3). pii: e02045-16
- [20] Singh CP, Singh J, Nagaraju J. bmnvp-miR-3 facilitates BmNPV infection by modulating the expression of viral P6.9 and other late genes in *Bombyx mori*[J]. Insect Biochem Mol Biol, 2014, **49**:59-69
- [21] Bellutti F, Kauer M, Kneidinger D, et al. Identification of RISC-associated adenoviral microRNAs, a subset of their direct targets, and global changes in the targetome upon lytic adenovirus 5 infection[J]. J Virol, 2015, **89**(3):1608-1627
- [22] Bauman Y, Nachmani D, Vitenstein A, et al. An identical miRNA of the human JC and BK polyoma viruses targets the stress-induced ligand ULBP3 to escape immune elimination[J]. Cell Host Microbe, 2011, **9**(2):93-102
- [23] Dunn W, Trang P, Zhong Q, et al. Human cytomegalovirus expresses novel microRNAs during productive viral infection[J]. Cell Microbiol, 2005, **7**(11):1684-1695
- [24] Meshesha MK, Veksler-Lubinsky I, Isakov O, et al. The microRNA Transcriptome of Human Cytomegalovirus (HCMV) [J]. Open Virol J, 2012, **6**:38-48
- [25] Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data[J]. Nucleic Acids Res, 2014, **42**(Database issue):D68-73
- [26] Ng KR, Li JY, Gleadle JM. Human cytomegalovirus encoded microRNAs: hitting targets[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2015, **13**(12):1469-1479
- [27] Grey F, Antoniewicz A, Allen E, et al. Identification and characterization of human cytomegalovirus-encoded microRNAs[J]. J Virol, 2005, **79**(18):12095-12099
- [28] Lisboa LF, Egli A, O'Shea D, et al. Hcmv-miR-UL22A-5p: A biomarker in transplantation with broad impact on host gene expression and potential immunological implications[J]. Am J Transplant, 2015, **15**(7):1893-1902
- [29] Fu M, Gao Y, Zhou Q, et al. Human cytomegalovirus latent infection alters the expression of cellular and viral microRNA[J]. Gene, 2014, **536**(2):272-278
- [30] Stark TJ, Arnold JD, Spector DH, et al. High-resolution profiling and analysis of viral and host small RNAs during human cytomegalovirus infection[J]. J Virol, 2012, **86**(1):226-235
- [31] Lisboa LF, Egli A, O'Shea D, et al. Hcmv-miR-UL22A-5p: A Biomarker in Transplantation With Broad Impact on Host Gene

- Expression and Potential Immunological Implications[J]. *Am J Transplant*, 2015, **15**(7):1893-1902
- [32] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, *et al.* Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, **294**(5543):853-858
- [33] Lee Y, Kim M, Han J, *et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II[J]. *EMBO J*, 2004, **23**(20):4051-4060
- [34] Yi R, Qin Y, Macara IG, *et al.* Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs [J]. *Genes Dev*, 2003, **17**(24):3011-3016
- [35] Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs[J]. *RNA*, 2004, **10**(2):185-191
- [36] King VM, Borchert GM. MicroRNA Expression: Protein Participants in MicroRNA Regulation [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, **1617**:27-37
- [37] Chekulaeva M, Filipowicz W. Mechanisms of miRNA-mediated post-transcriptional regulation in animal cells[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, **21**(3):452-460
- [38] Grey F. Role of microRNAs in herpesvirus latency and persistence[J]. *J Gen Virol*, 2015, **96**(Pt 4):739-751
- [39] Halenius A, Hengel H. Human cytomegalovirus and autoimmune disease[J]. *Biomed Res Int*, 2014, **2014**:472978
- [40] Stern-Ginossar N, Elefant N, Zimmermann A, *et al.* Host immune system gene targeting by a viral miRNA [J]. *Science*, 2007, **317**(5836):376-381
- [41] Kim Y, Lee S, Kim S, *et al.* Human cytomegalovirus clinical strain-specific microRNA miR-UL148D targets the human chemokine RANTES during infection[J]. *PLoS Pathog*, 2012, **8**(3):e1002577
- [42] Kim S, Lee S, Shin J, *et al.* Human cytomegalovirus microRNA miR-US4-1 inhibits CD8(+) T cell responses by targeting the aminopeptidase ERAP1 [J]. *Nat Immunol*, 2011, **12**(10):984-991
- [43] Landais I, Pelton C, Streblow D, *et al.* Human Cytomegalovirus miR-UL112-3p Targets TLR2 and Modulates the TLR2/IRAK1/NFκB Signaling Pathway [J]. *PLoS Pathog*, 2015, **11**(5):e1004881
- [44] Huang Y, Qi Y, Ma Y, *et al.* The expression of interleukin-32 is activated by human cytomegalovirus infection and down regulated by hcmv-miR-UL112-1 [J]. *Virol J*, 2013, **10**:51
- [45] Reeves M, Sinclair J. Regulation of human cytomegalovirus transcription in latency: beyond the major immediate-early promoter[J]. *Viruses*, 2013, **5**(6):1395-1413
- [46] Meshesha MK, Bentwich Z, Solomon SA, *et al.* In vivo expression of human cytomegalovirus (HCMV) microRNAs during latency[J]. *Gene*, 2016, **575**(1):101-107
- [47] Pan C, Zhu D, Wang Y, *et al.* Human Cytomegalovirus miR-UL148D Facilitates Latent Viral Infection by Targeting Host Cell Immediate Early Response Gene 5 [J]. *PLoS Pathog*, 2016, **12**(11):e1006007
- [48] O'Connor CM, Vanicek J, Murphy EA. Host microRNA regulation of human cytomegalovirus immediate early protein translation promotes viral latency[J]. *J Virol*, 2014, **88**(10):5524-5532
- [49] Mangieri LR, Mader BJ, Thomas CE, *et al.* ATP6V0C knockdown in neuroblastoma cells alters autophagy-lysosome pathway function and metabolism of proteins that accumulate in neurodegenerative disease[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(4):e93257
- [50] Pavelin J, Reynolds N, Chiweshe S, *et al.* Systematic microRNA analysis identifies ATP6V0C as an essential host factor for human cytomegalovirus replication [J]. *PLoS Pathog*, 2013, **9**(12):e1003820
- [51] Hook LM, Grey F, Grabski R, *et al.* Cytomegalovirus miRNAs target secretory pathway genes to facilitate formation of the virion assembly compartment and reduce cytokine secretion [J]. *Cell Host Microbe*, 2014, **15**(3):363-373