

## ·综述与讲座·

# 上皮细胞内在固有免疫在 EBV 相关肿瘤中的作用研究进展

陈 冀<sup>1,2</sup>, 张绪超<sup>1,2</sup>

(1. 南方医科大学第二临床医学院, 广州 510080; 2. 广东省肺癌研究所, 广东省肺癌转化医学重点实验室, 医学研究部, 南方医科大学附属广东省人民医院(广东省医学科学院), 广州 510080)

**[摘要]** EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是人类发现的第一种肿瘤相关病毒,与鼻咽癌、胃癌、肺淋巴上皮样癌和几种淋巴瘤的发生和发展密切相关。在 EB 病毒阳性的实体瘤中,肿瘤免疫微环境的特征及上皮细胞内在固有免疫在其中发挥重塑的作用机制尚未阐明,当代免疫检查点抑制剂治疗在病毒相关性肿瘤中初步取得了良好效果。本文重点综述 EBV 感染细胞的机制、EBV 阳性实体瘤中细胞内在固有免疫的变化及免疫检查点抑制剂在 EBV 相关肺癌等肿瘤中的应用进展。

**[关键词]** 固有免疫; 肺淋巴上皮样癌; 免疫治疗; 病毒相关性肿瘤; EB 病毒

**[中图分类号]** R730.3; R734.2 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.12019/j.issn.1671-5144.2023.03.007

## Proceedings in the Study of the Role of Intrinsic Innate Immunity of Epithelial Cells in EBV-Associated Tumors

CHEN Ji<sup>1,2</sup>, ZHANG Xu-chao<sup>1,2</sup>

(1. The Second Clinical School of Southern Medical University, Guangzhou 510080, China;  
2. Guangdong Lung Cancer Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Translational Medicine in Lung Cancer, Department of Medical Research, Guangdong Provincial Peoples Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Southern Medical University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** Epstein-Barr virus (EBV) is the first tumor-associated virus discovered in humans. It is closely related to the occurrence and development of nasopharyngeal carcinoma, gastric carcinoma, pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma, and several lymphomas. In EBV - positive solid tumors, the characteristics of the tumor immune microenvironment and the mechanism by which intrinsic innate immunity of epithelial cells plays a remodeling role have not been elucidated. Contemporary immune checkpoint inhibitor therapy has initially achieved good results in virus - associated tumors. In this article, we will focus on the review of the mechanism of EBV-infected cells, the changes of intrinsic immunity in EBV-positive solid tumors, and the progress of the application of immune checkpoint inhibitors in EBV-associated lung cancer and other tumors.

**Key words:** innate immunity; pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma (PLELC); immunotherapy; virus-associated cancer; Epstein-Barr virus

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(82173202,XZ)。

**[作者简介]** 陈冀(1999-),女,江西抚州人,在读硕士研究生,主要研究方向为肺癌肿瘤免疫微环境。

**[通讯作者]** 张绪超, Tel:020-83827812, E-mail:zhxuchao3000@126.com。

EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)主要感染B细胞和上皮细胞,引起从传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)到恶性肿瘤的各种疾病,包括B细胞中的地方性伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma, BL)、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma, HL)和移植后淋巴增生性疾病(post-transplant lymphoproliferative disorder, PTLN),以及上皮细胞中的鼻咽癌、胃癌和肺淋巴上皮样癌(primary lymphoepithelial lung carcinoma, PLELC)等<sup>[1-3]</sup>。PLELC是肺癌中一种罕见且独特的亚型,现已将其归属到鳞癌的范畴,EB病毒感染是其主要病因之一<sup>[4]</sup>。固有免疫作为机体的天然免疫成分,在抗感染和抗肿瘤方面都具有重要作用。EB病毒作为一种DNA病毒,感染会引起靶细胞的内在固有免疫反应(intrinsic innate immunity)。内在固有免疫分子在EB病毒相关性实体瘤发生发展及肿瘤微环境重塑中的作用有待深入研究。近些年,在肺淋巴上皮样癌中,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)初步取得了良好的临床效益,固有免疫分子的激动剂或抑制剂与免疫检查点抑制剂的联合使用是否能带来更好的疗效以及固有免疫分子能否成为预测标志物仍需进一步临床研究去证明。

## 1 EBV感染细胞的机制及表达产物

### 1.1 EB病毒进入细胞的机制

EB病毒属于人类疱疹病毒 $\gamma$ 型,是一种双链DNA病毒,基因组长度约172 kbp。作为人类发现的第一个肿瘤相关病毒,目前已报导与EB病毒相关的肿瘤有伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、鼻咽癌、EBV相关性胃癌、PLELC以及EBV相关性平滑肌瘤等<sup>[5]</sup>。EBV能够感染B细胞以及上皮细胞,由于细胞类型的不同,不同的EBV糖蛋白参与B细胞与上皮细胞的感染。EB病毒进入细胞的过程包括病毒与细胞表面的结合、内化与融合<sup>[6]</sup>。在B细胞中,EBV主要通过病毒包膜糖蛋白gp350/220与B细胞上的补体受体CD21(complement receptor type 2, CR2)结合,或者利用另一个补体受体CD35(complement receptor type 1, CR1)与之结合<sup>[7-8]</sup>,其次通过gp42与人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)Ⅱ类分子的结合感染B淋巴细胞<sup>[9]</sup>。在上皮细胞中,由于缺乏CD21以及HLAⅡ类分子,EBV主要通过糖蛋白gH与上皮细胞结合,随即通过形成gH-gL复合体感染上皮细胞<sup>[9]</sup>。

关于EBV在B细胞和上皮细胞之间是否存在转移及其机制是个重要科学问题,研究发现EBV在上皮细胞中复制时,gp42与gH-gL复合体结合,而在B细胞中复制时,gp42反而与HLAⅡ类分子分离,这使得这种病毒能够更有效的感染上皮细胞而不是其他B淋巴细胞,因此病毒能够在这两种不同细胞类型之间转换<sup>[10]</sup>。有研究表明,整合素和肌动蛋白的相互作用在介导EBV感染上皮细胞中发挥了重要作用<sup>[11-12]</sup>。除此之外,CD21介导的EB病毒与B细胞表面的整合素以及粘附分子的激活也参与了病毒从B细胞到上皮细胞的转移。EB病毒被内吞到细胞后,EBV的糖蛋白gH/gL和gB介导了病毒膜与内膜的融合<sup>[11]</sup>。另有研究表明EPH受体A2(Ephrin receptor A2, EphA2)能够与EB病毒糖蛋白gH/gL和gB相互作用,促进EB病毒的内化和融合,但EphA2是EB病毒进入上皮细胞所必须的而不是B细胞感染所必须的<sup>[6]</sup>。仅仅EB病毒的感染可能无法导致肿瘤的发生,世界上约95%的人感染EB病毒并成为无症状的感染者,这种持久性是EB病毒与B细胞相互作用的结果,破坏这种平衡的感染将导致EB病毒相关的B细胞肿瘤。EB病毒感染与其相关上皮癌发生的关系也可能是有其它因素的参与。

### 1.2 潜伏期及裂解期EB病毒基因产物

EBV基因组编码近100种病毒蛋白,在潜伏期,细胞将EBV的基因表达限制成不同模式的9种病毒潜伏蛋白来逃避免疫识别,其中包括6个潜伏期核抗原蛋白(EBNA1, 2, 3A, 3B, 3C和LP),3个潜伏膜蛋白(latent membrane protein, LMP1, 2A, 2B),以及潜伏期非编码RNA(EBER1/2以及BamH1A片段转录产物)<sup>[5]</sup>。裂解期基因分为即刻早期基因,早期及晚期裂解期基因,名称反映其表达的时间顺序<sup>[13]</sup>。B细胞的EBV感染初期导致病毒潜伏期,当B细胞经历B细胞受体(B cell receptor, BCR)激活或分化为浆细胞时,病毒随后转换为裂解期感染<sup>[14]</sup>。有研究表明,两个EB病毒编码的裂解期基因,BZLF1和BRLF1协同诱导多个早期裂解期基因的表达,包括编码组装病毒复制所需的6种病毒蛋白: BALF5、BALF2、BMRF1、BSLF1、BBLF4和BBLF2/3<sup>[15]</sup>。越来越多的证据表明裂解期感染有助于EBV诱导的肿瘤早期发展。一项对于鼻咽癌的研究中发现,EB病毒不是肿瘤发生过程的起始因素,而是促进肿瘤发展<sup>[5]</sup>。另一项研究中也表明,BART(BamH1A转录本)的miRNA对鼻咽癌的

发生发展有着关键的作用<sup>[10]</sup>。然而在PLELC中,缺失拷贝数变异(copy number variation, CNV)的ZBTB16和BART-5-3P的表达可能是PLELC发生的关键<sup>[16]</sup>。最近自然杂志发表文章显示EBNA1主要与人类宿主细胞的11号染色体脆性区域作用引发基因组不稳定,继而断裂可能与肿瘤发生相关<sup>[17]</sup>。EB病毒是如何感染肺上皮细胞以及如何导致肺淋巴上皮样癌的形成,这将是未来我们要致力于解决的问题。

基于EBV基因组的表达模式,潜伏期基因表达可分为I, II, III 3种类型。类型I仅有EBNA1的表达,通常与EBV阳性的伯基特淋巴瘤有关;类型II表达EBNA1和LMPs,与EBV阳性的HL、外周NK/T细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)相关;类型III,表达全部的EBNAs和LMPs,与EBV阳性的移植后淋巴增殖性疾病和人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)相关淋巴增殖性疾病相关<sup>[5]</sup>。在EBV阳性的上皮细胞肿瘤中,近期对于鼻咽癌EBV表达的分析确定了II型潜伏期感染,EBV阳性的胃癌中存在I型或者II型的潜伏期感染,PLELC的潜伏期感染类别尚不明确。潜伏期的基因产物与肿瘤发生发展的关系有很多研究,而裂解期的产物鉴定及与肿瘤发生的关系研究较少,这两个时相基因均需要进一步探索。

## 2 上皮细胞内在固有免疫通路

固有免疫是机体抵御病原体入侵的第一道防线,在抗病毒反应中,固有免疫发挥着至关重要的作用<sup>[18]</sup>。先天免疫系统通过宿主的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别微生物病原体,该受体结合独特的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)以及损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMPs),PAMPs是存在于微生物上的分子特征,如细菌脂多糖,而DAMPs在细胞死亡或损伤时释放到细胞外的分子,如DNA、RNA、ATP等<sup>[19-20]</sup>。PRRs包括TLRs、RIG-I样受体(retinoic acid-inducible gene I like receptors, RLRs)、核苷酸结合结构域和含亮氨酸重复序列的受体(nucleotide binding and leucine-rich repeat-containing receptors, NLRs)、C型凝集素受体(C-type lectin receptors, CLRs)、环GMP-AMP合酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)以及干扰素刺激

因子(stimulator of interferon genes, STING)等<sup>[21-26]</sup>。其中,TLRs、CLRs、STING属于跨膜蛋白,分布在不同膜结合区室中。其余一些PRRs在与PAMPs结合后,通过胞膜运输转移到其他膜结合区室,触发固有免疫信号<sup>[27]</sup>。

病原体的胞内感应是通过对胞质病毒性和细菌性核酸的检测来进行。一旦被检测到,固有免疫系统通过TBK1-IRF3和NF- $\kappa$ B等信号通路诱导I型干扰素和细胞因子的产生,协同帮助机体清除病原体 and 已感染的细胞。RIG-I和MDA5等RLRs能够检测到病毒的双链RNA,MDA5与RIG-I相互作用后诱导线粒体抗病毒信号转导蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVs)二聚化,二聚化后的MAVs与肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体相关因子3(TNF receptor-associated factor 3, TRAF3)结合并募集接头蛋白TANK, TANK将信号转导至TANK结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1),TBK1诱导干扰素调节因子3(IFN regulatory factor 3, IRF3)的磷酸化,从而诱导I型干扰素的表达<sup>[22, 28-29]</sup>。前人研究已证实STING和cGAS是针对胞质DNA免疫反应所必须的<sup>[25-26]</sup>。cGAS通过产生环二核苷酸cGMP-AMP(cGAMP)对DNA结合产生反应,cGAMP结合STING激活TBK1-IRF3介导的IFN-I表达<sup>[30]</sup>。此外,胞质DNA还可以通过转录病毒5'-三磷酸RNA的DNA依赖性RNA聚合酶III参与RIG-I-MAVs信号通路。

## 3 EB病毒阳性肿瘤细胞内在固有免疫的变化

### 3.1 EBV扰动内在固有免疫的一般机制

EB病毒的基因产物在驱动EBV相关的癌症发病机制中有着关键的作用,EBV潜伏期及裂解期蛋白或RNA产物能够干扰宿主的固有免疫系统、引发免疫逃逸以及促进宿主细胞的凋亡。其中,EBV可以改变固有免疫应答的关键效应分子Toll样受体9(Toll-like receptor, TLR9)的调节和表达,LMP1被证实作为TLR9的负调节因子抑制TLR9的启动子<sup>[31]</sup>。LMP2A, 2B通过靶向干扰素受体进行降解,来限制干扰素的作用<sup>[32]</sup>。潜伏期的基因表达产物中,存在数十种非编码RNA,microRNA对TLR信号的调控已确立<sup>[33]</sup>,对于其他固有免疫分子,研究表明miR-BART6-3P能够下调RIG-I以及干扰素的表达<sup>[34]</sup>。miR-223和EBV miR-BART 15



能够调节 NLRP3 炎症小体和 IL-1 $\beta$  的产生<sup>[35]</sup>。EB 病毒编码的小 RNA (EBV-encoded small RNAs, EBERs) 是最丰富的 EBV 病毒产物, 现在被广泛用作通过原位杂交检测组织中 EBV 感染细胞的靶分子, EBERs 能够被 TLR3、TLR7 以及 RIG-I 识别<sup>[36-38]</sup>, 且有研究表明 EBERs 通过调节鼻咽癌患者的先天免疫力来促进肿瘤的发生<sup>[39]</sup>。

裂解期感染是 EB 病毒感染的连续性特征, 为免疫系统提供持续刺激, 随着对裂解期基因的深入研究, 渐渐发现其在 EB 病毒相关的肿瘤形成中有着举足轻重的作用。裂解期 EBV 基因表达产物 BGLF5 能够通过 RNA 降解的方式下调 TLR9, 该方式有助于阻碍宿主先天抗病毒反应<sup>[40]</sup>。而 BILF1 被认为是一种 G 蛋白耦联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR), BILF1 能够调节许多细胞内途径, 其中包括 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[41-42]</sup>。BILF1 能够减少 RNA 依赖性蛋白激酶 (protein kinase RNA-dependent, PKR) 的激活从而干扰了细胞抗病毒防御系统<sup>[41]</sup>。PKR 是一种 IFN 诱导型 Ser/Thr 蛋白激酶, 由 dsRNA 直接激活, 在 dsRNA 的细胞质反应中发挥核心作用。PKR 通常以非磷酸化和无活性的形式存在于细胞质中, 并在感染后被自身磷酸化激活以启动信号转导, 最终抑止蛋白质合成<sup>[43]</sup>。另外, BILF1 能下调宿主细胞表面主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) I 类分子的表达, 从而消除 T 细胞识别实现免疫逃逸<sup>[44]</sup>。BPLF1 是一种病毒去泛素酶, 靶向  $\beta$  干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- $\beta$ , TRIF) 和 MyD88 蛋白以及 TRAF6 来下调 TRIF 和 MyD88 依赖的 TLR-MyD88-NF- $\kappa$ B 通路<sup>[45-46]</sup>。此外, EBV 会编码细胞抗凋亡 Bcl-2 癌蛋白的两种病毒同源物: BHRF1 和 BALF1<sup>[47-48]</sup>。BHRF1 能够保护人上皮细胞免受多种刺激诱导的凋亡, 并且通过防止凋亡延迟上皮细胞的分化从而导致恶性肿瘤的发展<sup>[47, 49-50]</sup>。可见 EBV 感染表达的潜伏期或裂解期蛋白或 RNA 产物能够广泛扰动固有免疫及相关信号通路, 从而参与肿瘤的发生发展。

### 3.2 EBV 阳性肿瘤细胞内在固有免疫变化

EBV 相关实体瘤主要有鼻咽癌、胃癌、肺癌等, 在非小细胞肺癌中, cGAS-STING 信号通路的缺失会导致致瘤性的增高并降低细胞毒性 T 淋巴细胞的浸润<sup>[51]</sup>。有研究证实, cGAS-STING 信号通路的激活与非小细胞肺癌化疗和免疫治疗的预后良

好相关<sup>[52]</sup>。在结直肠癌中, STING 的缺乏与癌症的发生密切相关, 通过结直肠癌的细胞系验证 STING 的低表达或缺失与 Duke's 分期相关<sup>[53]</sup>。对于 EBV 阳性的实体瘤, 一方面病毒感染激活体内的固有免疫应答, 发挥直接杀瘤作用, 另一方面启动适应性免疫应答, 增加肿瘤微环境中 T 淋巴细胞的浸润, 发挥抗肿瘤效应。

在 PLELC 中, 与固有免疫应答方面的研究少之又少, 且在固有免疫分子的扰动方面实验证据较少。但在最近的组学测序研究显示 PLELC 中与固有免疫相关通路的基因发生了相关变异。在一篇对 PLELC 的基因组测序研究中, 研究者使用了全外显子测序、靶向深度测序以及单核苷酸多态性阵列揭示了 PLELC 的基因组特征, 他们发现在 PLELC 中 14q 和 16q 存在频繁的缺失, 这导致 NF- $\kappa$ B 途径多个负调控因子失活<sup>[54]</sup>。除此之外, 他们还发现 TRAF3 的缺失在 PLELC 中普遍存在, TRAF3 作为非典型 NF- $\kappa$ B 途径的负调节因子发挥作用, 有研究表明 TRAF3 可以与 LMP1 相互作用, 被认为是 PLELC 的肿瘤抑制基因, 可能参与 PLELC 的肿瘤发生<sup>[54-56]</sup>。另外一项研究表明通过免疫组化在 PLELC 的组织中检测到程序性死亡配体 1 (programmed death ligand 1, PD-L1) 和 P53 的表达, 多组学基因组分析发现 CNVs 缺失以及 EBV 编码的 BART5-3P 表达的 ZBTB16 (zinc finger and BTB domain containing 16) 可能是 PLELC 肿瘤发生的关键, 而 PPARG 和 TGFBR2 的减少以及低突变率部分很好的解释了 PLELC 良好的预后<sup>[16]</sup>。

在 EB 病毒阳性的实体瘤中, PRRs 能够识别 EBV 的 DNA、RNA 和脂质分子。已有报道 RIG-I 通过依赖 RNA 聚合酶 III 来监测 EBERs<sup>[57-59]</sup>。在鼻咽癌中, Duan 等<sup>[59]</sup>研究发现鼻咽癌的进展是由 EBERs 触发 RIG-I-MAVs 途径从而引发一系列的炎症反应所导致的, 而且 RIG-I 的表达水平与 EBERs 的转录呈剂量依赖关系。除此之外, EBV 能靶向 TRIM29 蛋白, 进而下调 STING 的表达, 导致受感染的细胞中 STING 依赖的 I 型干扰素表达降低<sup>[60]</sup>。EB 病毒靶向干扰素信号通路的多个下游成分, 其中包括干扰素调节因子 IRFs、JAK-STAT 信号通路以及干扰素诱导基因 (interferon-stimulated genes, ISGs) 等<sup>[61]</sup>。ISG12a 可促进病毒感染的固有免疫反应, 且 ISG12a 可以通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制 PD-L1 的表达, ISG12a 的沉默加速了癌细

胞的恶性转化以及上皮-间质转化<sup>[62]</sup>。ISGs可以预测ICIs的疗效,尤其是与经典IFN信号通路传导有关的ISGs<sup>[63]</sup>。

在鼻咽癌中,EBV可以通过LMP1影响IFN- $\gamma$ 的产生,进而通过JAK-STAT信号通路上调PD-L1的表达<sup>[64]</sup>。我们在前期工作中发现,PLELC患者中PD-L1的表达、肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)水平较其他非小细胞肺癌高,而且PD-L1以及LAG3表达高的PLELC患者免疫治疗效果好<sup>[65]</sup>。这为ICIs有望成为EBV阳性的肿瘤首选治疗方案提供有力的证据。未来我们将继续探索PLELC肿瘤免疫微环境中EBV在上皮癌细胞与T淋巴细胞以及B淋巴细胞互作中如何发挥作用。

相比之下,在EBV阳性血液系统肿瘤中,EBV除了上述潜伏期和裂解期蛋白的作用,EB病毒编码的miRNA在原发性淋巴瘤中表达,与病毒潜伏状态密切相关。在NK细胞淋巴瘤中,miR-BART20-5p和miR-BART8通过抑制IFN- $\gamma$ -STAT1途径导致NK细胞淋巴瘤的进展<sup>[66]</sup>。在原发性T/NK细胞瘤(peripheral T-cell lymphomas, PTCL)中,通过基因富集分析发现EB病毒阳性的PTCL中IFN- $\alpha/\gamma$ 相关和IL-6-JAK-STAT3信号通路显著上调,以及NF- $\kappa$ B相关基因TLR8、CD27也是上调的<sup>[67]</sup>。

#### 4 靶向固有免疫的免疫治疗研究进展

免疫检查点抑制剂在临床上越来越多的被用于治疗包括肺癌在内的多种恶性肿瘤,取得了明确治疗效果而成为众多肿瘤的治疗标准之一。2016年, Kim等<sup>[68]</sup>报道了第一例用纳武利尤单抗治疗PLELC患者的病例,但患者10天后进展并且死亡。2017年, Kumar等<sup>[69]</sup>报道了2例进展期的PLELC患者使用纳武利尤单抗治疗,患者耐受性好且副作用小。我们回顾性研究的免疫治疗PLELC效果较好。总体上治疗结果是异质性的,也存在PLELC患者免疫治疗的效果差的情况,利用先天免疫能力去改善免疫治疗或许是很有希望的方案之一。

在临床试验方面,已经有多种STING激动剂在临床试验中用于抗肿瘤治疗,也有一些临床试验(NCT03172936、NCT04220866、NCT02675439)将STING激动剂与ICIs联合使用<sup>[70]</sup>。一项多中心II期临床试验表明,ADU-S100(一种STING激动剂)与帕博利珠单抗联合一起用于治疗复发性或

转移性头颈鳞癌患者,完全缓解率为16.7%,部分缓解率为83.3%(NCT03991559)<sup>[71]</sup>。在人乳头瘤病毒阳性的口腔癌的临床前模型中,肿瘤内注射STING激动剂结合抗程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)抗体和抗细胞毒T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)抗体的全身治疗导致71%的小鼠肿瘤消退,且显著高于单独使用PD-1阻断剂的疗效<sup>[72]</sup>。有研究表明,STING激动剂与抗CTLA-4免疫治疗联合使用可降低T淋巴细胞的活化阈值<sup>[73]</sup>。通过小鼠黑色素瘤模型实验表明,瘤内注射cGAMP可以增强CD8<sup>+</sup>T细胞的效应,当PD-L1和CTLA-4都被阻断时将进一步增强CD8<sup>+</sup>T细胞的作用<sup>[74]</sup>。除此之外,STING激动剂与血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)阻断剂的联合使用也表现出不错的效果,两者联合使用协同驱动CTL浸润到肿瘤的核心<sup>[75]</sup>。另有研究证实,STING激动剂、抗VEGFR抗体和抗PD-L1、CTLA-4抗体的三联免疫疗法在肺癌以及结肠癌小鼠模型中更有效和持久,延长了对ICIs或抗血管生成治疗小鼠的生存期<sup>[76]</sup>。虽然STING激动剂与ICIs的联合使用可以增强抗肿瘤的作用,但也有研究发现STING通路从肿瘤的发生发展到转移表现出一个促肿瘤的作用。有学者认为,当恶性肿瘤长期使用STING激动剂时,失去下游的细胞周期调节因子,炎症过程能够发挥其促肿瘤的作用,因此,cGAS-STING信号通路的慢性激活可能会促进肿瘤的转移<sup>[77-78]</sup>。目前,STING的表达与肿瘤的预后关系尚不明确,STING激动剂联合免疫治疗的疗效有待更多临床试验结果的公布。或许,固有免疫与免疫治疗之间相互关系可能为提高肿瘤免疫治疗效果提供新的思路。

但有研究表明,在病原体持续性感染的情况下,持续性的IFN信号以及ISGs的表达会抑制免疫反应。而在肿瘤的免疫治疗中,这种信号可以导致耐药性的产生<sup>[79]</sup>。日本的一项研究发现,STING介导的固有免疫信号通路可能与体内EBV肿瘤发生发展和加剧有关,并且EBV可以在避免抗肿瘤免疫力的同时利用先天性免疫<sup>[80]</sup>。由于对固有免疫在免疫治疗方面研究还不够透彻,我们并不能确定固有免疫在免疫治疗中扮演的角色,以及如何更好的利用固有免疫,这需要更多的研究去探索。

## 5 展 望

综上,EBV 广泛地扰动了固有免疫成分的变化,从而参与了肿瘤微环境的重塑与肿瘤的发生发展。相对于血液系统肿瘤和鼻咽癌,PLELC 等其它 EBV 相关实体瘤的固有免疫变化及具体作用机制资料相对较少,初步资料显示固有免疫相关基因发生了特异性的谱系突变。ICIs 在 PLELC 治疗中取得初步不错的治疗效果,部分晚期患者通过免疫治疗能获得较高的生存期,但并不是所有患者都能在免疫治疗中获益,也有部分患者基因测序结果显示 PD-L1 并不高表达,因而治疗方案还有待完善。PLELC 的肿瘤微环境在发生早期和疾病发展过程中,EBV 是如何通过固有免疫发挥重塑微环境作用尚不清楚。固有免疫激活程度与免疫逃逸、EBV 介导肺癌细胞与炎症细胞的互作、病毒与固有免疫分子相关的免疫治疗预测标志物、固有免疫潜在干预靶点等都是未来的重要研究方向。

### [参 考 文 献]

- [1] THORLEY - LAWSON D A, GROSS A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas[J]. *N Engl J Med*, 2004,350(13):1328-1337.
- [2] MIDDELDORP J M, BRINK A A T P, VAN DEN BRULE A J C, et al. Pathogenic roles for Epstein-Barr virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2003,45(1):1-36.
- [3] MARTIN D, GUTKIND J S. Human tumor-associated viruses and new insights into the molecular mechanisms of cancer[J]. *Oncogene*, 2008,27(2S):S31-S42.
- [4] NICHOLSON A G, TSAO M S, BEASLEY M B, et al. The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015[J]. *J Thorac Oncol*, 2022,17(3):362-387.
- [5] YOUNG L S, YAP L F, MURRAY P G. Epstein-Barr virus: more than 50 years old and still providing surprises[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016,16(12):789-802.
- [6] CHEN J, SATHIYAMOORTHY K, ZHANG X, et al. Ephrin receptor A2 is a functional entry receptor for Epstein-Barr virus[J]. *Nat Microbiol*, 2018,3(2):172-180.
- [7] FINGEROTH J D, WEIS J J, TEDDER T F, et al. Epstein-Barr virus receptor of human B lymphocytes is the C3d receptor CR2[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984,81(14):4510-4514.
- [8] OGEMBO J G, KANNAN L, GHIRAN I, et al. Human complement receptor type 1/CD35 is an Epstein - Barr virus receptor[J]. *Cell Rep*, 2013,3(2):371-385.
- [9] BORZA C M, HUTT-FLETCHER L M. Alternate replication in B cells and epithelial cells switches tropism of Epstein - Barr virus[J]. *Nat Med*, 2002,8(6):594-599.
- [10] DAMANIA B, KENNEY S C, RAAB-TRAUB N. Epstein-Barr virus: biology and clinical disease[J]. *Cell*, 2022,185(20):3652-3670.
- [11] CHESNOKOVA L S, HUTT - FLETCHER L M. Fusion of Epstein-Barr virus with epithelial cells can be triggered by  $\alpha\beta$  5 in addition to  $\alpha\beta$ 6 and  $\alpha\beta$ 8, and integrin binding triggers a conformational change in glycoproteins gHgL[J]. *J Virol*, 2011,85(24):13214-13223.
- [12] CHESNOKOVA L S, NISHIMURA S L, HUTT-FLETCHER L M. Fusion of epithelial cells by Epstein-Barr virus proteins is triggered by binding of viral glycoproteins gHgL to integrins  $\alpha$ 6 or  $\alpha$ 8[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009,106(48):20464-20469.
- [13] GEWURZ B E, TOWFIC F, MAR J C, et al. Genome-wide siRNA screen for mediators of NF- $\kappa$ B activation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012,109(7):2467-2472.
- [14] TEMPLE R M, ZHU J, BUDGEON L, et al. Efficient replication of Epstein-Barr virus in stratified epithelium in vitro[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014,111(46):16544-16549.
- [15] FIXMAN E D, HAYWARD G S, HAYWARD S D. Trans-acting requirements for replication of Epstein-Barr virus ori-Lyt[J]. *J Virol*, 1992,66(8):5030-5039.
- [16] CHEN B, ZHANG Y, DAI S, et al. Molecular characteristics of primary pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma based on integrated genomic analyses[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021,6(1):6.
- [17] LI J S Z, ABBASI A, KIM D H, et al. Chromosomal fragile site breakage by EBV-encoded EBNA1 at clustered repeats[J]. *Nature*, 2023,616(7957):504-509.
- [18] HORNING V, HARTMANN R, ABLASSER A, et al. OAS proteins and cGAS: unifying concepts in sensing and responding to cytosolic nucleic acids[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014,14(8):521-528.
- [19] TAKEUCHI O, AKIRA S. Pattern recognition receptors and inflammation[J]. *Cell*, 2010,140(6):805-820.
- [20] PALM N W, MEDZHITOV R. Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity[J]. *Immunol Rev*, 2009,227(1):221-233.
- [21] BLASIUS A L, BEUTLER B. Intracellular toll-like receptors[J]. *Immunity*, 2010,32(3):305-315.
- [22] YONEYAMA M, KIKUCHI M, NATSUKAWA T, et al. The RNA helicase RIG - I has an essential function in double - stranded RNA - induced innate antiviral responses[J]. *Nat Immunol*, 2004,5(7):730-737.
- [23] YE Z, TING J P. NLR, the nucleotide-binding domain leucine-rich repeat containing gene family[J]. *Curr Opin Immunol*, 2008,20(1):3-9.



- [24] GEIJTENBEEK T B, GRINGHUIS S I. Signalling through C-type lectin receptors: shaping immune responses [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(7):465-479.
- [25] SUN L, WU J, DU F, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 786-791.
- [26] ISHIKAWA H, BARBER G N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling [J]. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678.
- [27] TAGUCHI T, MUKAI K. Innate immunity signalling and membrane trafficking[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2019, 59:1-7.
- [28] TANG E D, WANG C-Y. MAVS self-association mediates antiviral innate immune signaling [J]. *J Virol*, 2009, 83(8): 3420-3428.
- [29] LIU S, CHEN J, CAI X, et al. MAVS recruits multiple ubiquitin E3 ligases to activate antiviral signaling cascades [J]. *Elife*, 2013, 2:e00785.
- [30] TANAKA Y, CHEN Z J. STING specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the cytosolic DNA signaling pathway[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(214):ra20.
- [31] FATHALLAH I, PARROCHE P, GRUFFAT H, et al. EBV latent membrane protein 1 is a negative regulator of TLR9 [J]. *J Immunol*, 2010, 185(11):6439-6447.
- [32] SHAH K M, STEWART S E, WEI W, et al. The EBV - encoded latent membrane proteins, LMP2A and LMP2B, limit the actions of interferon by targeting interferon receptors for degradation [J]. *Oncogene*, 2009, 28(44):3903-3914.
- [33] O'NEILL L A, SHEEDY F J, MCCOY C E. MicroRNAs: the fine - tuners of Toll - like receptor signalling [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(3):163-175.
- [34] LU Y, QIN Z, WANG J, et al. Epstein - Barr Virus miR - BART6-3p Inhibits the RIG-I Pathway [J]. *J Innate Immun*, 2017, 9(6):574-586.
- [35] HANEKLAUS M, GERLIC M, KUROWSKA - STOLARSKA M, et al. Cutting edge: miR - 223 and EBV miR - BART15 regulate the NLRP3 inflammasome and IL-1 $\beta$  production [J]. *J Immunol*, 2012, 189(8):3795-3799.
- [36] LI Z, TSAI M-H, SHUMILOV A, et al. Epstein-Barr virus ncRNA from a nasopharyngeal carcinoma induces an inflammatory response that promotes virus production [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(12):2475-2486.
- [37] IWAKIRI D, ZHOU L, SAMANTA M, et al. Epstein - Barr virus (EBV) - encoded small RNA is released from EBV - infected cells and activates signaling from Toll-like receptor 3 [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(10): 2091-2099.
- [38] SAMANTA M, IWAKIRI D, KANDA T, et al. EB virus - encoded RNAs are recognized by RIG-I and activate signaling to induce type I IFN [J]. *EMBO J*, 2006, 25(18):4207-4214.
- [39] TAKADA K. Role of EBER and BARF1 in nasopharyngeal carcinoma (NPC) tumorigenesis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(2):162-165.
- [40] VAN GENT M, GRIFFIN B D, BERKHOFF E G, et al. EBV lytic-phase protein BGLF5 contributes to TLR9 downregulation during productive infection [J]. *J Immunol*, 2011, 186(3): 1694-1702.
- [41] BEISSER P S, VERZIJL D, GRUIJTHUIJSEN Y K, et al. The Epstein - Barr virus BILF1 gene encodes a G protein - coupled receptor that inhibits phosphorylation of RNA - dependent protein kinase [J]. *J Virol*, 2005, 79(1):441-449.
- [42] PAULSEN S J, ROSENKILDE M M, EUGEN-OLSEN J, et al. Epstein-Barr virus-encoded BILF1 is a constitutively active G protein-coupled receptor [J]. *J Virol*, 2005, 79(1):536-546.
- [43] COLE J L. Activation of PKR: an open and shut case? [J]. *Trends Biochem Sci*, 2007, 32(2):57-62.
- [44] ZUO J, CURRIN A, GRIFFIN B D, et al. The Epstein-Barr virus G-protein-coupled receptor contributes to immune evasion by targeting MHC class I molecules for degradation [J]. *PLoS pathog*, 2009, 5(1):e1000255.
- [45] VAN GENT M, BRAEM S G E, DE JONG A, et al. Epstein-Barr virus large tegument protein BPLF1 contributes to innate immune evasion through interference with toll - like receptor signaling [J]. *PLoS pathog*, 2014, 10(2):e1003960.
- [46] SAITO S, MURATA T, KANDA T, et al. Epstein-Barr virus deubiquitinase downregulates TRAF6 - mediated NF -  $\kappa$ B signaling during productive replication [J]. *J Virol*, 2013, 87(7):4060-4070.
- [47] KHANIM F, DAWSON C, MESEDA C A, et al. BHRF1, a viral homologue of the Bcl-2 oncogene, is conserved at both the sequence and functional level in different Epstein - Barr virus isolates [J]. *J Gen Virol*, 1997, 78 (Pt 11): 2987-2999.
- [48] MARSHALL W L, YIM C, GUSTAFSON E, et al. Epstein - Barr virus encodes a novel homolog of the bcl-2 oncogene that inhibits apoptosis and associates with Bax and Bak [J]. *J Virol*, 1999, 73(6):5181-5185.
- [49] FOGHSGAARD L, JÄÄTTELÄ M. The ability of BHRF1 to inhibit apoptosis is dependent on stimulus and cell type [J]. *J Virol*, 1997, 71(10):7509-7517.
- [50] KAWANISHI M. Epstein-Barr virus BHRF1 protein protects intestine 407 epithelial cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha and anti-Fas antibody [J]. *J Virol*, 1997, 71(4):3319-3322.
- [51] KITAJIMA S, IVANOVA E, GUO S, et al. Suppression of STING associated with LKB1 loss in KRAS-driven lung cancer [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(1):34-45.
- [52] DELLA CORTE C M, SEN T, GAY C M, et al. STING pathway expression identifies NSCLC with an immune - responsive phenotype [J]. *J Thorac Oncol*, 2020, 15(5):777-791.
- [53] XIA T, KONNO H, AHN J, et al. Deregulation of STING signaling in colorectal carcinoma constrains DNA damage responses and correlates with tumorigenesis [J]. *Cell Rep*, 2016, 14(2):282-297.

- [54] HONG S, LIU D, LUO S, et al. The genomic landscape of Epstein-Barr virus-associated pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):3108.
- [55] WU S, XIE P, WELSH K, et al. LMP1 protein from the Epstein-Barr virus is a structural CD40 decoy in B lymphocytes for binding to TRAF3[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(39):33620-33626.
- [56] HARIWIYANTO B, SASTROWIYOTO S, MUBARIKA S, et al. LMP1 and LMP2 may be prognostic factors for outcome of therapy in nasopharyngeal cancers in Indonesia[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 11(3):763-766.
- [57] ABLASSER A, BAUERNEFEIND F, HARTMANN G, et al. RIG-I-dependent sensing of poly(dA:dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate[J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(10):1065-1072.
- [58] CHIU Y-H, MACMILLAN J B, CHEN Z J. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG-I pathway[J]. *Cell*, 2009, 138(3):576-591.
- [59] DUAN Y, LI Z, CHENG S, et al. Nasopharyngeal carcinoma progression is mediated by EBER-triggered inflammation via the RIG-I pathway[J]. *Cancer Lett*, 2015, 361(1):67-74.
- [60] XING J, ZHANG A, ZHANG H, et al. TRIM29 promotes DNA virus infections by inhibiting innate immune response[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):945.
- [61] LANGE P T, WHITE M C, DAMANIA B. Activation and evasion of innate immunity by gammaherpesviruses[J]. *J Mol Biol*, 2022, 434(6):167214.
- [62] DENG R, ZUO C, LI Y, et al. The innate immune effector ISG12a promotes cancer immunity by suppressing the canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(11):1163-1179.
- [63] AYERS M, LUNCEFORD J, NEBOZHYN M, et al. IFN- $\gamma$ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(8):2930-2940.
- [64] FANG W, ZHANG J, HONG S, et al. EBV-driven LMP1 and IFN- $\gamma$  up-regulate PD-L1 in nasopharyngeal carcinoma: implications for oncotargeted therapy[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(23):12189-12202.
- [65] ZHONG Y-M, YIN K, CHEN Y, et al. PD-1/PD-L1 combined with LAG3 is associated with clinical activity of immune checkpoint inhibitors in metastatic primary pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:951817.
- [66] HUANG W-T, LIN C-W. EBV-encoded miR-BART20-5p and miR-BART8 inhibit the IFN- $\gamma$ -STAT1 pathway associated with disease progression in nasal NK-cell lymphoma[J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(4):1185-1197.
- [67] WAI C M M, CHEN S, PHYU T, et al. Immune pathway upregulation and lower genomic instability distinguish EBV-positive nodal T/NK-cell lymphoma from ENKTL and PTCL-NOS[J]. *Haematologica*, 2022, 107(8):1864-1879.
- [68] KIM C, RAJAN A, DEBRITO P A, et al. Metastatic lymphoepithelioma-like carcinoma of the lung treated with nivolumab: a case report and focused review of literature[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2016, 5(6):720-726.
- [69] KUMAR V, DAVE V, HARRIS J, et al. Response of advanced stage recurrent lymphoepithelioma-like carcinoma to nivolumab[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(12):955-961.
- [70] JIANG M, CHEN P, WANG L, et al. cGAS-STING, an important pathway in cancer immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):81.
- [71] TIAN Z, ZENG Y, PENG Y, et al. Cancer immunotherapy strategies that target the cGAS-STING pathway[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:996663.
- [72] DORTA-ESTREMER S, HEGDE V L, SLAY R B, et al. Targeting interferon signaling and CTLA-4 enhance the therapeutic efficacy of anti-PD-1 immunotherapy in preclinical model of HPV+ oral cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1):252.
- [73] OK C Y, YOUNG K H. Checkpoint inhibitors in hematological malignancies[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):103.
- [74] MIAO L, LI L, HUANG Y, et al. Delivery of mRNA vaccines with heterocyclic lipids increases anti-tumor efficacy by STING-mediated immune cell activation[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(10):1174-1185.
- [75] GALON J, BRUNI D. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumours with combination immunotherapies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(3):197-218.
- [76] YANG H, LEE W S, KONG S J, et al. STING activation reprograms tumor vasculatures and synergizes with VEGFR2 blockade[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(10):4350-4364.
- [77] LEMOS H, MOHAMED E, HUANG L, et al. STING promotes the growth of tumors characterized by low antigenicity via IDO activation[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8):2076-2081.
- [78] SONG S, PENG P, TANG Z, et al. Decreased expression of STING predicts poor prognosis in patients with gastric cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:39858.
- [79] BENCI J L, JOHNSON L R, CHOA R, et al. Opposing functions of interferon coordinate adaptive and innate immune responses to cancer immune checkpoint blockade[J]. *Cell*, 2019, 178(4):933-948.e14.
- [80] MIYAGI S, WATANABE T, HARA Y, et al. A STING inhibitor suppresses EBV-induced B cell transformation and lymphomagenesis[J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(12):5088-5099.

[收稿日期] 2023-06-13