



钱雯, 北京协和医学院免疫学博士, 研究员。就职于云南沃森生物技术股份有限公司, 先后从事疫苗的研发、生产和质量控制及管理工作 20 余年。主要研究方向为疫苗技术开发及质量控制。作为主研人员完成了 b 型流感嗜血杆菌结合疫苗、流脑等疫苗品种的关键技术的突破、产业化研究和现场质量体系的建立。涉及品种已上市销售, 先后获得云南省科技进步二等奖 3 项, 三等奖 1 项。昆明市科技进步二等奖 1 项, 三等奖 1 项。承担国家认定企业技术中心、云南省疫苗工程技术研究中心、云南省生物技术药物工程研究中心等多项资质平台创新能力建设工作。为生物结合疫苗研发省创新团队核心成员。昆明市创新团队带头人, 入选云南省产业技术领军人才、云南省科技创新人才、昆明市有突出贡献优秀专业技术人员、获得 PMI-PMP、ACP 项目管理专业人士认证、MATRIZ L3 国际创新认证。国家三级创新工程师及一级创新培训师。申请发明专利 7 项, 授权 5 项, 其中第一发明人 3 项。第一作者或通讯作者发表中文核心期刊文章 11 篇, SCI 文章 1 篇。

靶向抗 HSV-1 的 siRNA 研究进展

周磊¹⁾, 吕雯雯¹⁾, 段永忠²⁾, 钱雯³⁾, 程继帅⁴⁾

(1)昆明医科大学药学院; 2)生物医学工程研究院, 云南昆明 650500; 3)云南沃森生物技术有限公司, 云南昆明 650101; 4)昆明医科大学实验动物学部, 云南昆明 650500)

[摘要] 单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)是一种能够在各类人群中携带和传播并能引起包括口唇疱疹、 conjunctivitis、角膜炎和病毒性脑炎等疾病的重要病原体。虽然已有多种类型的 HSV-1 疫苗处于研发的不同阶段, 但仍没有商业化的疫苗上市销售。临床上使用的特异性抗 HSV-1 药物如阿昔洛韦、伐昔洛韦和喷昔洛韦等也面临严重的抗药性威胁, 开发新的特异性抗 HSV-1 药物是当前所面临的主要任务之一。siRNA 是一种长度为 20~25 核苷酸的双链 RNA, 通过在转录后水平上沉默基因表达发挥干扰作用。siRNA 作为一种新的、有潜力的抗病毒药物备受关注, 发展也较为迅速。综述近年来 siRNA 在抗 HSV-1 方面的研究进展, 包括靶向 HSV-1 关键基因和 HSV-1 互作的宿主细胞基因的 siRNA 设计、递送和靶向策略。

[关键词] 小干扰 RNA; 单纯疱疹病毒 1 型; 靶向调控

[中图分类号] R392.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)09-0001-08

Research Progress of siRNA Targeting Against HSV-1

ZHOU Lei¹⁾, LYU Wenwen¹⁾, DUAN Yongzhong²⁾, QIAN Wen³⁾, CHENG Jishuai⁴⁾

(1) School of Pharmacy; 2) Institute of Biomedical Engineering, Kunming Medical University, Kunming Yunnan, 650500; 3) Walvax Biotechnological Limited Company, Kunming Yunnan 650101; 4) Dept. of Experimental Animals, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] HSV-1 is an important pathogen that can be carried and transmitted in various populations and can cause diseases including herpes labialis, capsulatus, keratitis and viral encephalitis. Although there are several

[收稿日期] 2024-05-28

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82360393); 云南省产业技术创新人才计划项目(YNWR-CYJS-2018-049); 云南省教育厅科研基金资助项目(2020J0152)

[作者简介] 周磊(2000~), 男, 云南昆明人, 在读硕士研究生, 主要从事分子生物学、免疫学等研究工作。

[通信作者] 钱雯, E-mail: yfzxqw@walvax.com; 程继帅, E-mail: chengjishuai@kmmu.edu.cn

types of HSV-1 vaccines in various stages of development, there is still no commercially available vaccine on the market. The specific anti-HSV-1 drugs used in clinical practice, such as acyclovir, valaciclovir and penciclovir, are also facing the serious threat of resistance. The development of new specific anti-HSV-1 drugs is one of the main tasks currently faced. siRNA is a double-stranded RNA with a length of 20-25 nucleotides that plays an interfering role by silencing gene expression at the post-transcriptional level. As a new and potential antiviral drug, siRNA has attracted much attention and developed rapidly. In this paper, we review the recent progress of siRNA in anti-HSV-1 research, including the design, delivery and targeting strategies of siRNA targeting key HSV-1 genes and HSV-1 interacting host cell genes.

[**Key words**] siRNA; HSV-1; Research Progress

单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)在世界范围内普遍流行,引起临床上常见的口唇疱疹(herpes labialis, HL)并反复发作,由于病毒感染后终身携带以及抗病毒药物的耐用性、副作用等问题而导致疾病难以完全治疗。1995 年小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)的发现为治疗 HSV-1 感染提供了基因层面的新策略,人工合成的 siRNA 通过特异性沉默效应靶向与 HSV-1 增殖有关的自身或宿主基因,进而影响病毒增殖。研究表明,基于 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)的抗 HSV-1 疗法可能发展为一种有效的临床治疗手段。

1 HSV-1 生物学

HSV-1 是一种广泛存在于世界范围内的常见病毒,具有普遍性、潜伏感染和年龄分布的特征,其感染率在不同地区和人群中大有不同^[1-2]。全球每年大约 14 000 例新生儿感染 HSV,其中 HSV-1 比例占到了 4000 例,尤其在美洲、欧洲和西太平洋地区,HSV-1 的病例数比 HSV-2 多^[3]。即使 HSV-1 的血清阳性率逐年降低,但是在青年人中 HSV-1 的血清阳性率仍达到了 57.7%^[4]。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)最新数据显示,全世界 0~49 岁中约有 67% 的人群受到了 HSV-1 的感染。HSV-1 的普遍流行使世界医疗负担加重,在全球范围内都有着重要的健康影响,自新型冠状病毒(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)爆发以来,有报道称感染或接种 COVID-19 疫苗诱发了 HSV-1 的再激活现象^[5]。HSV-1 大多数的感染是通过口唇接触传播而引起不同程度的 HL。感染宿主外周组织后,一部分病毒便会通过逆行轴突感染神经元,其最大特征是进行潜伏性感染,人三叉神经节是 HSV-1 主要的潜伏部位,一旦潜伏建立病毒便难以被清除。HSV-1 感染通常表现为轻度的疱疹症状,但在免

疫系统受损或其他因素影响下,可能导致严重的并发症^[6]。HSV-1 感染会引起严重和罕见的疾病,如失明和脑炎^[7]。反复的脑感染也可积累性的造成神经元受损,如阿尔兹海默症(Alzheimer's disease, AD)^[8]。

尽管目前市面上具有有效的传统抗 HSV-1 药物可以减轻症状,例如阿昔洛韦(Acyclovir)和喷昔洛韦(Penciclovir),该类核苷类药物虽能抑制 HSV-1 的复制,但在长期的治疗中,存在耐药性和副作用等问题^[9-12]。多款用于预防 HSV-1 感染的疫苗也大多数处于不同的研发阶段,还没有批准上市的产品可供人们使用^[13]。因此,寻找新的治疗策略显得尤为重要。

2 RNAi 技术

近年来, RNA 干扰(RNA interference, RNAi)已经被广泛用于各类口腔疾病、变异体调控以及病毒治疗等方面^[14-16]。通过序列特异性方式可沉默与疾病相关基因,使小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)成为一种有前途的治疗方式。siRNA 是人工合成的外源双链反义 RNA(double-stranded antisense RNA, dsRNA),是一类独特的 DNA 转录物,其大小为 21~23 个核苷酸,具有与 mRNA 完全互补的特性。siRNA 通过 RNA 干扰与同源靶基因结合促进 mRNA 降解,在转录后的表达水平上进行高效特异性沉默。1995 年, RNAi 在秀丽隐杆线虫中被证明参与基因调控表达^[17];随后 Fire 等^[18]首次揭示 RNAi 现象并因此获得了诺贝尔奖,2001 年,在果蝇模型中 Elbashir 等^[19]表明具有 21nt 至 22nt 的 RNA 是实现 RNAi 的重要序列特异性结构,siRNA 具有突出的 3' 末端和磷酸化的 5' 端,其实现高效切割的位点位于其所结合区域的中心附近。更重要的是,合成的 siRNA 在哺乳动物细胞中可实现转录后基因特异性沉默^[20],该项研究推动了 siRNA 在哺乳动物中

的应用奠定了基础。

2.1 siRNA 的作用机制

通常情况下, dsRNA 通过跨膜蛋白 SID-1 转移至细胞质, 在细胞质中被 Dicer 核糖核酸酶 III (dicer ribonuclease III, RNase III) 切割成更小的 dsRNA 分子, 被称为 siRNA, 它包含一条正义链和一条反义链^[21]。siRNA 反义链是具有生物学活性的链, 成熟的 siRNA 与 RNA 沉默诱导复合体 (RNA silencing induction complex, RISC) 结合并激活该复合物, 随后 RISC 的核酸内切酶 (argonaute 2, AGO2) 切割 siRNA 的正义链, 而将反义链运输到细胞质中与 mRNA 结合, 由于靶 mRNA 的序列与 siRNA 反义链是完全互补的, 导致 siRNA 高效特异性沉默靶基因^[22-23]。DNA 转录成 dsRNA, 通过 SID-1 转移至细胞质, 在其中被 Dicer 切割成初级双链 siRNA, 成熟的 siRNA 与 RISC 结合形成复合物, 通过反义链与靶 mRNA 序列结合导致 mRNA 降解。见图 1。

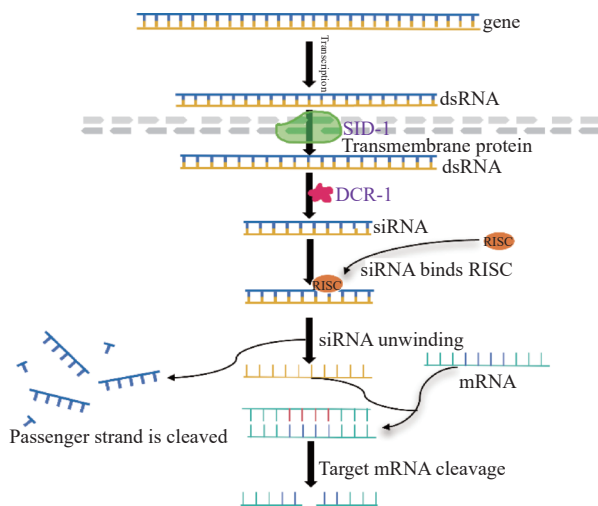


图 1 siRNA 作用机制示意图

Fig. 1 Schematic diagram of siRNA mechanism of action

3 靶向 HSV-1 编码基因的 siRNA

近年来, siRNA 作为一种新的抗 HSV-1 策略得到了广泛的研究。siRNA 可以靶向 HSV-1 的基因发挥直接抗病毒效应。同时, 靶向与 HSV-1 互作的宿主基因能够实现间接抗病毒效应。

3.1 靶向 HSV-1 编码衣壳蛋白基因的 siRNA

人工合成的 siRNA 是潜在的 HSV-1 基因治疗药物, 由于其特异靶向性、低毒和高效而成为人们广泛关注的焦点^[24]。Jin 等^[25] 设计多个 siRNA 分别靶向 HSV-1 的 UL18、UL19、UL26、UL26.5、

UL35 和 UL38 核衣壳蛋白编码基因, 研究结果显示 UL18 和 UL19 效果显著。此外, 他们还通过电镜定位实验表明, 联合靶向病毒衣壳蛋白 VP 23 和 VP 5 能更显著影响 HSV-1 复制。

3.2 靶向 HSV-1 编码 α 基因的 siRNA

感染细胞蛋白 0 (infected cell protein 0, ICP0) 是单纯疱疹病毒在裂解性和潜伏性感染期间的重要调节因子, 在缺乏 ICP0 蛋白的病毒中, 发现宿主细胞能够抑制病毒基因组的转录。Agbaria 等^[26] 将 siRNA 做成靶向 HSV-1 ICP0 蛋白的脂质体 LipDOPE-siHSV (DOPE 是内体逃逸辅助脂质) 并转染受感染细胞, 研究表明 ICP0 的表达水平呈剂量依赖性下降。使用 siHSV 脂质体治疗后, ICP0 的表达水平降低产生的影响在病毒斑块减少实验和 3D 表皮模型中都得到了验证。

3.3 靶向 HSV-1 编码 β 基因的 siRNA

UL29 编码单链 DNA 结合蛋白 ICP8, 不但在病毒 DNA 复制中起到重要作用还表现出抑制来自亲本基因组的转录和刺激晚期基因转录^[27-28]。通过复制缺陷型 5 型人腺病毒 (adenovirus type 5, Adv 5) 作为载体介导的 shRNA, 以 UL29 为靶标, 转导后有效降低 UL29 的蛋白水平并在体外显著抑制 HSV-1 复制^[29]。HSV-1 DNA 聚合酶是病毒复制的一个关键酶, 临床上使用的大多数核苷类药物都以其作为靶点。HSV-1 核糖核苷酸还原酶 (ribonucleotide reductase, RR) 基因作为一种 β 基因, 在病毒 DNA 复制中起重要的调节作用。UL39 和 UL40 是编码 RR 基因同源二聚体的关键蛋白, Silva 等^[30] 通过 siRNA 特异性地沉默 UL39 和 UL40 表达, 导致 HSV-1 的增殖被抑制, 其中一条 siRNA 有效抑制了 99% 的病毒增殖。此外, Zhe 等^[31-34] 研究表明使用 siRNA 靶向视网膜上皮细胞中的 HSV-1 ICP4 蛋白和 UL39 (编码 ICP6) 可有效减少 HSV-1 增殖。

3.4 靶向 HSV-1 编码 γ 基因的 siRNA

UL28 蛋白是切割和包装 HSV-1 DNA 所需的七种病毒蛋白之一^[35], Adv5 作为载体介导的 shRNA, 以 UL28 为靶标, 转导后有效降低了 UL28 的蛋白表达水并在体外显著抑制 HSV-1 复制^[29]。通过酶促反应制备的靶向 UL54、UL29 和 UL27 的 siRNA 在不同程度上抑制了病毒靶基因 mRNA 表达水平。然而, 靶向 UL29 的 siRNA 最具潜力^[36]。在小鼠角膜模型实验中, 靶向 UL29 的 siRNA 能抑制病毒增殖, 减轻了病毒的感染症状并增加了小鼠存活的时间^[37]。此外, siRNA-UL29 对 TK 缺陷型 HSV-1 治疗也有效^[38]。酶法合成的 2'-氟修

饰 Dicer 底物 siRNA (2F-siRNA) 靶向 HSV-1 UL29 基因, 对 RNA 聚合酶 A (RNA polymerase A, RNase A) 具有高抗性而不易被降解的优势, 与未修饰的 siRNA 相比其抗 HSV-1 效力增加了 100 倍^[39]。VP16 是病毒立即早期 (immediate early, IE) 的重要转录基因, Zhang 等^[40] 设计了靶向 VP16 (由 UL48 基因编码) 的 siRNA-1 和靶向 DNA 聚合酶的 siRNA-4, 表明 2 种 siRNA 都显著抑制 HSV-1 复制。

HSV-1 包膜蛋白能与宿主细胞表面受体结合, 促进病毒与宿主细胞之间的相互作用。Zhu 等^[41] 通过转染靶向 gD (US6) 的特异性 siRNA 到 Vero 细胞中, gD 的敲低导致 HSV-1 空斑数和病毒蛋白的表达和复制效率降低。转染靶向 gE (US8) 特异性 siRNA 到 HaCaT 细胞中, 相比之下, 用 siRNA 转染宿主细胞中 WT HSV-1 感染产生类似于 gE 突变病毒的噬斑, 与靶向 gD 的 siRNA 有类似作用^[42]。

综上所述, siRNA 靶向 HSV-1 关键基因的研究为开发新型抗 HSV-1 药物提供了重要的理论基础和实验依据, 为治疗 HSV-1 感染提供了新的思路和途径。靶向 HSV-1 编码基因的 siRNA, 见表 1。

4 靶向与 HSV-1 互作宿主基因的 siRNA

病毒是一种专性细胞寄生生物, 在病毒复制增殖的过程中, 许多的宿主细胞基因参与了病毒的生命活动过程。HSV-1 在增殖的各个阶段都与宿主基因发生着广泛的相互作用, 靶向与 HSV-1 互作宿主基因的 siRNA, 同样可以发挥抗 HSV-1 的功能, 这也是设计 siRNA 药物的策略之一。

4.1 靶向宿主细胞表观调控通路的 siRNA

表观遗传调控在 HSV-1 的感染过程中发挥重要的作用^[43]。在 HSV-1 感染的 IE 期, 病毒基因组能招募组蛋白去甲基化酶 1 (histone demethylase 1, LSD1) 促进病毒基因的转录, 利用 siRNA 敲低 LSD 1 基因的表达有效地抑制 HSV-1 的裂解复制和潜伏再激活感染^[44]。HSV-1 感染后显著上调锌指转录因子胰岛素瘤相关 1 (zinc finger transcription factor insulinoma-associated 1, INSM1) 的表达, 而用 siRNA 敲低 INSM1 基因的表达后抑制了 HSV-1 的复制^[45]。

增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 是调控 HSV-1 复制及组蛋白沉积的重要细胞因子^[46]。用 siRNA 敲低 PCNA 的表达后, HSV-1 的滴度有所下降, 表明 PCNA 对病毒复制有促进作用^[47]。

蔗糖非发酵蛋白 2 同源物 (sucrose nonfermenting protein 2 homolog, SNF2H) 是染色质重塑酶的 ISWI 家族的成员, 在 HSV-1 复制区室 (HSV-1 replication chamber, RC) 中表达最丰富。特异性 siRNA 敲低 SNF 2H mRNA 表达水平导致病毒复制减少, 表明 SNF2H 能够促进 HSV-1 的增殖^[48]。

CoREST 是一种辅助性抑制蛋白, 与抑制性转录因子 REST 和组蛋白去乙酰化酶 (HDACs) 1 或 2 形成复合物来抑制细胞基因表达。先前的研究表明, ICP0 可以与 CoREST 结合并将 HDAC1 从 CoREST/REST/去甲基化酶 1 (LSD1) 抑制复合物中排斥出去, 靶向 CoREST/REST 的 siRNA 导致了病毒 α 蛋白 (ICP4、ICP0、ICP22 和 ICP27) 和 β 蛋白 ICP8 的积累均显著减少^[49]。

4.2 靶向宿主细胞内吞信号通路的 siRNA

内吞网络是细胞进行吞噬、运输和分解细胞外物质的复杂系统, 细胞环境中的出芽过程由 4 种转运复合物 (transport complex, ESCRT) 和一些蛋白介导, 在维持内吞网络完整性方面起着重要作用^[50]。其中, ALIX 和 TSG101 是研究的最为深入的 ESCRT 的互作蛋白, 而且 HSV-1 编码蛋白的中也存在潜在的 ALIX 和 TSG101 结合序列基序, 对病毒包膜的形成具有一定作用。Pawliczek 等^[51] 通过 siRNA 敲低 ALIX 和 TSG101 后发现, HSV-1 增殖但并不需要 ALIX 和 TSG101^[52]。

细胞囊泡内吞过程需要 ESCRT-III 组分 CHMP4C 参与, 先前被证明对 HSV-1 包膜内吞网络循环的完整性并且是不可缺少的。Russell 等^[53] 转染特异性 siRNA 敲低 CHMP4C 表达后能显著降低 HSV-1 的滴度。

4.3 靶向宿主细胞基因的其他 siRNA

Nectin-1 是 HSV 进入宿主细胞的受体蛋白, 先前研究表明 nectin-1 在 HaCaT 角质形成细胞系中高度表达^[54]。从小鼠角质形成细胞中敲除 nectin-1 导致 HSV-1 进入减少^[55], Sayers 等^[56-57] 使用 siRNA 敲除 nTERT 细胞的 nectin-1 和 HVEM 受体导致病毒进入减少。B5 蛋白是 HSV-1 进入宿主的辅助受体, siRNA 沉默 B5 蛋白表达后导致 HSV-1 空斑形成水平明显降低, ICP4、ICP0、ICP27 和 VP16 蛋白表达也显著降低^[58]。靶向与 HSV-1 互作宿主基因的 siRNA 见表 2。

5 小结

HSV-1 是一种能在神经细胞中发生潜伏感染

表 1 靶向 HSV-1 编码基因的 siRNA
Tab. 1 Summary of siRNAs targeting HSV-1-encoded genes

靶基因	siRNA	正向 (5'-3')	反向 (5'-3')	干扰效率(%)	参考文献
UL18	siUL18-1	GCACCGUUAACCUUCGCAATT	UUGCGAAGGUUAACGGUGCTT	86.78	[25]
	siUL18-2	GUCCUUAACAUGGUUUACUTT	AGUAAACCAUGUUAAGGACTT	60.00	
	siUL18-3	CCAUCAUCCUACGCUAAUTT	AUUAGCGUAAGGAUGAUGGTT	87.25	
	siUL18-4	CCCGUUAUACGCUAUCCCUAA	AGGGAUAGCGUAUAACGGGGG	65.00	
UL19	siUL19-1	CCAGCGACGUACAGUUUAATT	UAAAACUGUACGUCGUGGCG	79.71	
	siUL19-2	CUUUUGUGCCGAUGCATT	UGCAUCGGCAACAACAAAGTT	81.52	
	siUL19-3	CGACCGACGUACAACUACUUTT	AAGUAGUUGACGUCGGUCGTT	81.52	
	siUL19-4	CCAGCGACGUACAGUUUAATT	UAAAACUGUACGUCGUGGTT	78.86	
UL26	siUL26-1	CCGUUAACAACAUGAUGCUTT	AGCAUCAUGUUGGUUAACGGCG	40.00	
	siUL26-2	CCGAUUUGUUCGUCUCUCATT	UGAGAGACGAACAAAUCGGCG	81.21	
	siUL26-3	CUGUUGUACCUGAUCACCAAC	UGGUGAUCAGGUACAACAGGC	NC	
	siUL26-4	CCGUUAACAACAUGAUGCUGC	AGCAUCAUGUUGGUUAACGGCG	10.00	
UL26.5	siUL26.5	CCGAUUUGUUCGUCUCUCAUU	UUGGCUAAACAAGCAGAGAGU	52.12	
UL28	shRNAUL28	GATCCGCAGGTGCAGACCTATG TGTTTTCAAGAGAACACATAGG TCTGCACCTGCTTTTTTGAAA	NC	DAY1 50.00	[29]
				DAY2 70.00	
				DAY3 60.00	
				DAY4 40.00	
UL29	shRNAUL29	GATCCGCAATCAATTCCAACCG GTGCTTCAAGAGAGCACCGGTT GGAATTGATTGCTTTTTTGAAA	NC	DAY1 60.00	
				DAY2 80.00	
				DAY3 60.00	
				DAY4 50.00	
UL30	siRNA-4	GGUACAACAUCAUCAACUUTT	AAGUUGAUGAUGUUGUACCTT	6 h 60.00	[40]
				12 h 80.00	
UL35	siUL35-1	CACGCAAACAACACGUUUATT	UAACGUGUUGUUGCGUGGG	50.00	[25]
	siUL35-2	GCCACCAUAACUCUCAGUTT	ACUGAGAGUUAUUGGUGGCCA	55.95	
	siUL35-3	CUCUCAGUUUAUCAUGGAUTT	AUCCAUGAUAAACUGAGAGTT	22.00	
	siUL35-4	GUUUGUCGUCGAGAACCUTT	AGGUUCUCGAACGACAAACGG	30.00	
UL38	siUL38-1	GGCCUAGUGUCGUUUAACUTT	AGUUAACGACACUAGGCCCG	NC	[25]
	siUL38-2	GGAUCACCAAACCGAUUCATT	UGAAUCGUGUUGGUGAUCCCGG	10.00	
	siUL38-3	GCGUUUCUGUACCUUGUAUTT	AUACCAGGUACAGAAACGCCG	82.48	
	siUL38-4	GUUGUGUGUACGUGAUCATT	UUGAUCACGUACACACAACAC	NC	
UL39	siRNA1	CUGCACCAUGAUCAUCGACdTdT	GUCGAUGAUCAUGGUGCAGdTdT	29.63	[33]
	siRNA2	AUCGGCCUGAAGUAUGAGdTdT	CUCAUACUUCAGGGCCGAUUG	27.07	
	siRNA3	GCGCUGCGACAAUAUCUUCdTdT	GAAGAUUUGUCGACGCGCUG	NC	
	siRNA4	CCAUAAGCCAAUCCAUGACdTdT	GGUCAUGGAUUGGCUAUGGUC	NC	
UL40	siRNA-1	GACGACCUGGUUACGGAAAdTdT	UUUCCGUAACCAGGUCGUCGG	2.73	[30]
	siRNA-2	AAUGCAUCGAAGUCGUACAdTdT	UGUACGACUUCGAUGCAUUC	69.83	
	siRNA-3	UCACCUGCCAGUCAACGAdTdT	UCGUUUGACUGGCAGGUGACC	67.94	
	siRNA-4	AAAUUGGUGUGUUUGUCGGUG	AAAUUGGUGUGUUUGUCGGUG	81.31	
ICP4	siRNA	GCAACAGCAGCUCCUUCAUdTdT	dTdTTCGUUGUCGUCGAGGAAGUA	12 h 69.00	
				24 h 95.00	
VP16	siRNA-1	GGUACUUUAUGGUGUUGAUTT	AUCAACACCAUAAAGUACCTT	NC	[31, 40]

表 2 靶向宿主基因与 HSV-1 相互作用的 siRNA
Tab. 2 Summary of siRNA targeting host genes interacting with HSV-1

靶基因	siRNA	正向(5'-3')	参考文献
INSM1	siINSM1	UCCGCAAGCUGCACUUCGATT	[45]
SNF2H	siRNA5	GGAAUGGUAUACUCGGAUA	[48]
	siRNA6	GGGCAAA UAGAUUCGAGUA	
	siRNA7	GGAUUUACCAAUUGGAAUA	
	siRNA8	GUUCUUUCCUCCACGUUUA	
REST	siREST	GUGAUACUGUAGAUUACAC	[49]
coREST	sicoREST	AAGAUUGUCCCGUUCUUGACU	[59]
TSG101	siTSG101	CCUCCAGUCUUCUCUCGUCTT	[52]
ALIX	siALIX	GCCGCUGGUGAAGUUAUUCTT	

的病毒,这使得很难通过药物治疗或机体的免疫力彻底将其清除。siRNA 在 2001 年被首次报道后,为治疗 HSV-1 带来了新希望^[19]。通过 siRNA 靶向 HSV-1 基因和互作宿主基因以及与其他治疗手段的联合应用为治疗 HSV-1 感染及相关 siRNA 疫苗开发提供了新的策略。

siRNA 的高效递送系统也是值得进行深入研究的方。目前在 mRNA 疫苗中常用的脂纳米颗粒 (lipid nanoparticles, LNP) 是非常成熟的递送系统,但其细胞毒性和激活天然免疫的副作用仍需进一步的改进。

尽管 siRNA 药物治疗病毒性疾取得了些进展,目前还没有基于 RNAi 的抗 HSV-1 疗法,其临床应用仍面临着挑战,需要进一步的研究和探索来解决相关的技术难题和安全性问题。

[参考文献]

- Looker K J, Magaret A S, May M T, et al. Global and regional estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 1 infections in 2012[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0140765.
- James C, Harfouche M, Welton N J, et al. Herpes simplex virus: Global infection prevalence and incidence estimates, 2016[J]. *Bull World Health Organ*, 2020, 98(5): 315-329.
- Looker K J, Magaret A S, May M T, et al. First estimates of the global and regional incidence of neonatal herpes infection[J]. *Lancet Glob Health*, 2017, 5(3): e300-e309.
- Xu F, Sternberg M R, Kottiri B J, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States[J]. *Jama*, 2006, 296(8): 964-973.
- Navarro-Bielsa A, Gracia-Cazana T, Aldea-Manrique B, et al. COVID-19 infection and vaccines: Potential triggers of Herpesviridae reactivation[J]. *An Bras Dermatol*, 2023, 98(3): 347-354.
- Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections[J]. *The Lancet*, 2001, 357(9267): 1513-1518.
- Marcocci M E, Napoletani G, Proto V, et al. Herpes simplex virus-1 in the brain: The dark side of a sneaky infection[J]. *Trends Microbiol*, 2020, 28(10): 808-820.
- De Chiara G, Marcocci M E, Sgarbanti R, et al. Infectious agents and neurodegeneration[J]. *Mol Neurobiol*, 2012, 46(3): 614-638.
- De Clercq E. A 40-year journey in search of selective antiviral chemotherapy[J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2011, 51(1): 1-24.
- De Clercq E. Antivirals: Past, present and future[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(6): 727-744.
- Burrell S, Boutolleau D, Azar G, et al. Phenotypic and genotypic characterization of acyclovir-resistant corneal HSV-1 isolates from immunocompetent patients with recurrent herpetic keratitis[J]. *J Clin Virol*, 2013, 58(1): 321-324.
- Sadowski L A, Upadhyay R, Greeley Z W, et al. Current drugs to treat infections with herpes simplex viruses-1 and -2[J]. *Viruses*, 2021, 13(7): 1228.
- Preda M, Manolescu L S C, Chivu R D. Advances in alpha herpes viruses vaccines for human[J]. *Vaccines (Basel)*, 2023, 11(6): 1094.
- Pushparaj P N, Aarthi J J, Manikandan J, et al. siRNA, miRNA, and shRNA: In vivo applications[J]. *J Dent Res*, 2008, 87(11): 992-1003.
- Hu B, Zhong L, Weng Y, et al. Therapeutic siRNA: State

- of the art[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 101.
- [16] Tan F L, Yin J Q. RNAi, a new therapeutic strategy against viral infection[J]. *Cell Res*, 2004, 14(6): 460–466.
- [17] Guo S, Kemphues K J. par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed[J]. *Cell*, 1995, 81(4): 611–620.
- [18] Fire A, Xu S, Montgomery M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 1998, 391(6669): 806–811.
- [19] Elbashir S M, Lendeckel W, Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs[J]. *Genes Dev*, 2001, 15(2): 188–200.
- [20] Elbashir S M, Harborth J, Lendeckel W, et al. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells[J]. *Nature*, 2001, 411(6836): 494–498.
- [21] Hammond S M, Bernstein E, Beach D, et al. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells[J]. *Nature*, 2000, 404(6775): 293–296.
- [22] Saurabh S, Vidyarthi A S, Prasad D. RNA interference: concept to reality in crop improvement[J]. *Planta*, 2014, 239(3): 543–564.
- [23] Carthew R W, Sontheimer E J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 642–655.
- [24] Griffiths S J, Haas J. siRNA screening for genes involved in HSV-1 replication[J]. *Bio Protoc*, 2014, 4(16): e1209.
- [25] Jin F, Li S, Zheng K, et al. Silencing herpes simplex virus type 1 capsid protein encoding genes by siRNA: A promising antiviral therapeutic approach[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96623.
- [26] Jbara-Agbaria D, Blondzik S, Burger-Kentscher A, et al. Liposomal siRNA formulations for the treatment of herpes simplex virus-1: In vitro characterization of physicochemical properties and activity, and in vivo biodistribution and toxicity studies[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(3): 633.
- [27] Taylor T J, Knipe D M. Proteomics of herpes simplex virus replication compartments: association of cellular DNA replication, repair, recombination, and chromatin remodeling proteins with ICP8[J]. *J Virol*, 2004, 78(11): 5856–5866.
- [28] Bryant K F, Yan Z, Dreyfus D H, et al. Identification of a divalent metal cation binding site in herpes simplex virus 1 (HSV-1) ICP8 required for HSV replication[J]. *J Virol*, 2012, 86(12): 6825–6834.
- [29] Song B, Liu X, Wang Q, et al. Adenovirus-mediated shRNA interference against HSV-1 replication in vitro[J]. *J Neurovirol*, 2016, 22(6): 799–807.
- [30] Silva A P, Lopes J F, Paula V S. RNA interference inhibits herpes simplex virus type 1 isolated from saliva samples and mucocutaneous lesions[J]. *Braz J Infect Dis*, 2014, 18(4): 441–444.
- [31] Duan F, Ni S, Nie Y, et al. Small interfering RNA targeting for infected-cell polypeptide 4 inhibits herpes simplex virus type 1 replication in retinal pigment epithelial cells[J]. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 2012, 40(2): 195–204.
- [32] Liu Y T, Song B, Wang Y L, et al. [SiRNA targeting ICP4 attenuates HSV-1 replication] [J]. *Bing Du Xue Bao*, 2010, 26(3): 163–169.
- [33] Zhe R, Mei-Ying Z, Kitazato K, et al. Effect of siRNA on HSV-1 plaque formation and relative expression levels of UL39 mRNA[J]. *Arch Virol*, 2008, 153(7): 1401–1406.
- [34] Ren Z, Li S, Wang Q L, et al. Effect of siRNAs on HSV-1 plaque formation and relative expression levels of RR mRNA[J]. *Virol Sin*, 2011, 26(1): 40–46.
- [35] Heming J D, Conway J F, Homa F L. Herpesvirus capsid assembly and DNA packaging[J]. *Adv Anat Embryol Cell Biol*, 2017, 223: 119–142.
- [36] Paavilainen H, Lehtinen J, Romanovskaya A, et al. Inhibition of clinical pathogenic herpes simplex virus 1 strains with enzymatically created siRNA pools[J]. *J Med Virol*, 2016, 88(12): 2196–2205.
- [37] Paavilainen H, Lehtinen J, Romanovskaya A, et al. Topical treatment of herpes simplex virus infection with enzymatically created siRNA swarm[J]. *Antivir Ther*, 2017, 22(7): 631–637.
- [38] Kalke K, Lehtinen J, Gnjatovic J, et al. Herpes simplex virus type 1 clinical isolates respond to UL29-targeted siRNA swarm treatment independent of their acyclovir sensitivity[J]. *Viruses*, 2020, 12(12): 1434.
- [39] Levanova A A, Kalke K M, Lund L M, et al. Enzymatically synthesized 2'-fluoro-modified Dicer-substrate siRNA swarms against herpes simplex virus demonstrate

- enhanced antiviral efficacy and low cytotoxicity[J]. *Anti-viral Res*, 2020, 182: 104916.
- [40] Zhang Y Q, Lai W, Li H, et al. Inhibition of herpes simplex virus type 1 by small interfering RNA[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2008, 33(1): 56–61.
- [41] Zhu Q C, Ren Z, Zhang C L, et al. Silencing HSV1 gD expression in cultured cells by RNA interference[J]. *Bing Du Xue Bao*, 2007, 23(1): 22–27.
- [42] Bhuyan P K, Kariko K, Capodici J, et al. Short interfering RNA-mediated inhibition of herpes simplex virus type 1 gene expression and function during infection of human keratinocytes[J]. *J Virol*, 2004, 78(19): 10276–10281.
- [43] 吴长静, 邹雨芳, 黄新伟. HSV1 感染中的表观遗传调控机制研究进展 [J]. *昆明医科大学学报*, 2024, 45(1): 172–178.
- [44] Liang Y, Vogel J L, Narayanan A, et al. Inhibition of the histone demethylase LSD1 blocks alpha-herpesvirus lytic replication and reactivation from latency[J]. *Nat Med*, 2009, 15(11): 1312–1317.
- [45] Kamakura M, Goshima F, Luo C, et al. Herpes simplex virus induces the marked up-regulation of the zinc finger transcriptional factor INSM1, which modulates the expression and localization of the immediate early protein ICP0[J]. *Virol J*, 2011, 8: 257.
- [46] Olivo J F, Guille F, Lobel B. Microscopic hematuria. Semiologic value in urology. Management of microscopic hematuria[J]. *J Urol (Paris)*, 1989, 95(8): 453–458.
- [47] Sanders I, Boyer MF, Fraser N W. Early nucleosome deposition on, and replication of, HSV DNA requires cell factor PCNA[J]. *J Neurovirol*, 2015, 21(4): 358–369.
- [48] Bryant K F, Colgrove R C, Knipe D M. Cellular SNF2H chromatin-remodeling factor promotes herpes simplex virus 1 immediate-early gene expression and replication[J]. *MBio*, 2011, 2(1): e00330–10.
- [49] Zhou G, Te D, Roizman B. The CoREST/REST repressor is both necessary and inimical for expression of herpes simplex virus genes[J]. *mBio*, 2010, 2(1): e00313–10.
- [50] McCullough J, Colf LA, Sundquist W I. Membrane fission reactions of the mammalian ESCRT pathway[J]. *Annu Rev Biochem*, 2013, 82: 663–692.
- [51] Pawliczek T, Crump C M. Herpes simplex virus type 1 production requires a functional ESCRT-III complex but is independent of TSG101 and ALIX expression[J]. *J Virol*, 2009, 83(21): 11254–11264.
- [52] Barnes J, Wilson D W. The ESCRT-II subunit EAP20/VPS25 and the bro1 domain proteins HD-PTP and BROX are individually dispensable for herpes simplex virus 1 replication[J]. *J Virol*, 2020, 94(4): e01641–19.
- [53] Russell T, Samolej J, Hollinshead M, et al. Novel role for ESCRT-III component CHMP4C in the integrity of the endocytic network utilized for herpes simplex virus envelopment[J]. *mBio*, 2021, 12(3): e02183–20.
- [54] Huber M T, Wisner T W, Hegde N R, et al. Herpes simplex virus with highly reduced gD levels can efficiently enter and spread between human keratinocytes[J]. *J Virol*, 2001, 75(21): 10309–10318.
- [55] Petermann P, Thier K, Rahn E, et al. Entry mechanisms of herpes simplex virus 1 into murine epidermis: Involvement of nectin-1 and herpesvirus entry mediator as cellular receptors[J]. *J Virol*, 2015, 89(1): 262–274.
- [56] Sayers C L, Elliott G. Herpes simplex virus 1 enters human keratinocytes by a nectin-1-dependent, rapid plasma membrane fusion pathway that functions at low temperature[J]. *J Virol*, 2016, 90(22): 10379–10389.
- [57] Tiwari V, Oh M J, Kovacs M, et al. Role for nectin-1 in herpes simplex virus 1 entry and spread in human retinal pigment epithelial cells[J]. *FEBS J*, 2008, 275(21): 5272–5285.
- [58] Cheshenko N, Trepanier J B, Segarra T J, et al. HSV usurps eukaryotic initiation factor 3 subunit M for viral protein translation: novel prevention target[J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11829.
- [59] Gu H, Liang Y, Mandel G, et al. Components of the REST/CoREST/histone deacetylase repressor complex are disrupted, modified, and translocated in HSV-1-infected cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(21): 7571–7576.