

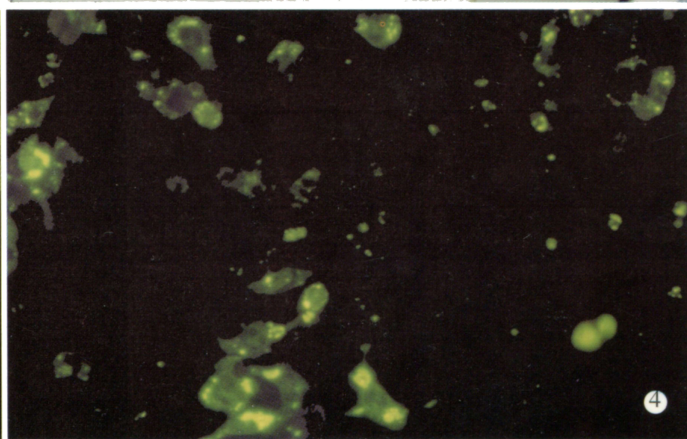
世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 4 月 15 日 第 11 卷 第 4 期

(Volume 11 Number 4)



4/2003

ISSN 1009-3079

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生



World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®, Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 1.445. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

目次

2003 年 4 月 15 日 第 11 卷 第 4 期 (总第 108 期)

述评	373 新基因结构与功能研究的策略 成军
病毒性肝炎	378 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因和蛋白的生物信息学分析 成军,李克,陆荫英,王琳,刘妍 385 酵母双杂交技术筛选 Hcbp6 结合的肝细胞蛋白编码基因 王琳,李克,成军,陆荫英,张健,陈天艳,洪源,刘妍,王刚,钟彦伟 389 噬菌体表面展示技术筛选 HCBP6 人源单链可变区抗体 钟彦伟,成军,张忠东,孙敏,李强,李克,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅 394 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因转染肝癌细胞的基因表达谱芯片分析 刘妍,成军,李克,杨倩,陆荫英,王琳,王建军 399 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS3 反式激活的相关基因 牟劲松,刘妍,王刚,成军,段惠娟,李克,陆荫英,王琳,王惠芬
肝癌	404 单克隆抗体 3A5- 复方中药安迪偶联物的肝癌导向治疗 梁军,孙纪元,谢艳华,栗燕,闫露,王四旺 408 树突状细胞内外对肝癌细胞的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英,吕同德 411 肝癌组织中 survivin 蛋白表达的意义 陈涛,贾玉容,田伏洲,蔡忠红,李广阔 415 热休克蛋白 70 与 IL-2 对小鼠肝癌移植模型的治疗比较 傅庆国,沈晓东,孟凡东,郭仁宣 419 肝癌 DC 疫苗活化的 CTL 对人肝癌裸鼠皮下移植瘤的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英
基础研究	422 HBeAg 肝细胞结合蛋白基因的筛选与克隆 陆荫英,王琳,李克,刘妍,成军,张玲霞 426 酵母双杂交技术筛选 HBeAg 肝细胞结合蛋白基因 陆荫英,王琳,成军,李克,刘妍,张玲霞 430 大鼠肝卵圆细胞的生物学特征 陈耀凯,王宇明,李俊刚,郎松 434 肝硬变大鼠肝部分切除术后残肝 TGF- α 、HGF、PCNA 和 IGFBP-1s mRNA 的变化 陈平,李昆,董家鸿,韩本立 438 细菌内同源重组法构建 HBV S 区和 C 区基因非复制型腺病毒载体及其体外表达 黄呈辉,欧阳玲,马会慧,汤正好,李刚,姚集鲁 442 大鼠肠巨噬细胞 TNF α 表达及复方大承气汤的影响 陈海龙,王辉,李文利,范琦 446 家兔回肠淋巴管铸型的扫描电镜研究 滕诚毅,王晓平,魏双艳,王广友,汤凤彩
焦点论坛	450 酵母单杂交技术的原理及应用 马守东,洪源,成军 451 酵母双杂交系统的原理及应用 陈天艳,成军,张树林 456 抑制性消减杂交技术原理及应用 杨倩,成军,刘妍,王建军,张树林 459 噬菌体展示技术的原理及应用 张忠东,成军,张树林 461 基因芯片技术在肝炎病毒研究中的应用 刘妍,成军,王建军,杨倩,陆荫英 464 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 466 丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 469 肿瘤抑制因子 p21/waf1 与肝炎病毒复制与表达的调节研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 472 乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 474 生物信息学技术与新基因的研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳
研究快报	478 中药复方肠安泰对肠癌肺转移模型小鼠肠黏膜固有层 B 细胞及 IL-12 的影响 王文萍,王垂杰,姜良铎,饭乡正明 481 细胞外信号调节激酶在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系 褚传莲,李延青,张燕,李文婕,赵宪邨

研究快报	483 实验性肝纤维化形成过程中几种基质金属蛋白酶表达的研究 李保森,游绍莉,赵志海,辛绍杰,赵景民,王松山 486 鼠肝移植对胃黏膜损伤的实验研究 褚延魁,马庆久,鲁建国,刘维,何显力,杜锡林,乔庆,王胜智
临床经验	488 重叠丙型肝炎病毒感染在慢性乙型肝炎患者肝脏病变中的作用 商庆华,于建国,徐传镇,肖德明,尹燕明,陈崇兴,张光曙 491 正常人胃左静脉的声象图及血流动力学特征 夏建国,董胜翔,李凤华 494 手术与非手术治疗重症急性胰腺炎 120 例 金世龙,侯庆福,顾红光,王仁云,廖维健
消息	388 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 393 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 398 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快 403 世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版目次 407 提供您使用世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版 414 世界华人消化杂志和 WJG 获得商标注册 418 美国国立医学图书馆 2002 年度收录中国医学期刊名单 425 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助 433 WJG 搭建我国消化化学基础和临床研究惟一国际交流的平台 437 世界胃肠病学杂志英文版获得第二届国家期刊奖百种重点期刊 477 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊
征文通知	429 第五届上海国际肝癌肝炎会议征文启事 480 全国第八届中西医结合普通外科学术研讨会征文通知
电子版	2003 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2003.htm 2002 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2002.htm 2001 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2001.htm 2003 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2003.htm 2002 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2002.htm 2001 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2001.htm
读者来信	493
封面故事	377 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所、基因治疗研究中心

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)
创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-04-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀 张金哲
黄象谦 张学庸
黄志强 赵东海
黎介寿 周殿元
刘耕陶 社长总编辑 马连生
裘法祖 中文编辑 潘伯荣
汤钊猷 王瑾晖
王宝恩 英文编辑 任师颜
危北海 排版 李少华
吴孟超 校对 李天华
吴咸中

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail: wcjd@wjgnet.com
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>
电话 (010)85381892
传真 (010)85381893
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话: (010)85381892
传真: (010)85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外
检索系统收录
美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志()》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明
本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079 邮发代号 国外代号 国内定价 广告经营许可证
CN 14-1260/R 82-262 M 4481 每期 24.00 元 全年 288.00 元 1401004000050

COMMENTARY

Strategy in study the structure and function of novel gene

Cheng J 373

VIRAL HEPATITIS

Bioinformatics analysis of human hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene and protein

Cheng J, Li K, Lu YY, Wang L, Liu Y 378

Screening of gene encoding of hepatic proteins interacting with Hcbp6 via yeast two hybridization

Wang L, Li K, Cheng J, Lu YY, Zhang J, Chen TY, Hong Y, Liu Y, Wang G, Zhong YW 385

Screen for human single chain variable region in antibody against human hepatitis C virus core protein binding protein 6

Zhong YW, Cheng J, Zhang ZD, Sun M, Li Q, Li K, Wang L, Li L, Zhang LX, Chen JM 389

Gene expression profile of HepG2 cell transfected with hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene

Liu Y, Cheng J, Li K, Yang Q, Lu YY, Wang L, Wang JJ 394

Cloning of genes transactivated by NS3 protein of HCV with suppressive and subtractive hybridization

Mu JS, Liu Y, Wang G, Cheng J, Duan HJ, Li K, Lu YY, Wang L, Wang HF 399

LIVER CANCER

Effect of monoclonal antibody 3A5 coupled with Chinese medicine compound Andi in targeted treatment of hepatocellular carcinoma

Liang J, Sun JY, Xie YH, Li Y, Yan L, Wang SW 404

Inhibition of dendritic cells against hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*

Guo JW, Qin LW, Cai MY, Lu TD 408

Expression of survivin protein in hepatocellular carcinoma tissues and its relationship with clinical pathological features and prognosis.

Chen T, Jia YR, Tian FZ, Cai ZH, Li GK 411

Comparison of therapeutic efficacy between tumor-derived heat shock protein 70 and interleukine-2

Fu QG, Shen XD, Meng FD, Guo RX 415

Cytotoxic lymphocytes primed by DC based hepatocellular carcinoma vaccine against growth of carcinoma xenograft on nude mice

Guo JW, Qin LW, Cai MY 419

BASIC RESEARCH

Screening and cloning of gene encoding HBcAg interacting protein in hepatocytes

Lu YY, Wang L, Li K, Cheng J, Liu Y, Zhang LX 422

Screening of HBcAg interacting proteins in hepatocytes with yeast-two hybrid technique

Lu YY, Wang L, Li K, Liu Y, Cheng J, Zhang LX 426

Biological characteristics of rat hepatic oval cells

Chen YK, Wang YM, Li JG, Lang S 430

Changes of TGF- α , HGF, PCNA and IGFBP-1s mRNA after partial hepatectomy in rat liver

Chen P, Li K, Dong JH, Han BL 434

Construction of replication-deficient recombinant adenoviral vector carrying HBV S and C region gene by homologous recombination in bacteria and its expression *in vitro*

Huang CH, Ou-Yang L, Ma HH, Tang ZH, Li G, Yao JL 438

TNF α expression and effects of Dachengqi Decoction compound in gut macrophages

Chen HL, Wang H, Li WL, Fan Q 442

Lymphatic corrosion casts in rabbit ileum: scanning electronmicroscopic studies

Teng CY, Wang XP, Wei SY, Wang GY, Tang FC 446

FOCUSED FORUM

Principle and applications of yeast single hybridization

Ma SD, Hong Y, Cheng J 450

Principle of yeast two hybridization and its applications

Chen TY, Cheng J, Zhang SL 451

Principle and applications of suppressive and subtractive hybridization technique

Yang Q, Cheng J, Liu Y, Wang JJ, Wang SL 456

Principle of phage display technique and its application

Zhang ZD, Cheng J, Zhong YW, Zhang SL 459

Gene chip technique in the pathogenesis of viral hepatitis

Liu Y, Cheng J, Wang JJ, Yang Q, Lu YY 461

Hepatitis C virus and signal transduction system of JAK-STAT

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 464

Hepatitis C virus and signal transduction system of MAPK

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 466

Tumor inhibitive factor p21/waf1 and regulation of replication and expression of hepatitis virus

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 469

Effect of Hepatitis B virus on cellular signal transduction

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 472

Study on Bioinformatics and new gene

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 474

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi \$

World Chinese Journal of Digestology
Monthly \$ \$

Founded on 15th January, 1993

Renamed on 25th January, 1998

Publication date 15th April, 2003

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

ISSN 1009-3079 **CN** 14-1260/R

Edited by Editorial Board of World Chinese Journal of Digestology
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

77, Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Overseas Distributor China International Book Trading Corporation
P.O.Box 399, Beijing 100044, China **Code No.** M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

Copyright © 2003 by The WJG Press

Indexed/

Abstracted by

Chemical Abstracts

EMBASE/

Excerpta Medica

Abstract Journal

丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统

成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳

成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳,中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心,全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039 国家自然科学基金资助项目, No.C39970674, C03011402
项目负责人:成军,100039,北京市西四环中路100号,中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心. cj@genetherapy.com.cn
电话:010-66933391 传真:010-63801283
收稿日期:2002-10-29 接受日期:2002-11-18

成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳. 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统. 世界华人消化杂志 2003;11(4):464-466
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/464.htm>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)感染具有显著的慢性化倾向,而且只有部分患者对于干扰素 (IFN) 的治疗有较好的应答. 为什么会存在这种情况和差别,这是与 HCV-肝细胞之间相互作用的分子生物学机制和基础来决定的^[1]. 关于 HCV 分子生物学调节机制以及细胞信号转导的研究进展和研究结果表明, HCV RNA 和 / 或其编码的蛋白分子, 对于感染细胞的信号转导及其应答机制产生影响, 是造成 HCV 慢性感染和对于 IFN 治疗应答率偏低的重要原因^[2]. Janus 激酶 - 信号转导和转录激活子 (JAK-STAT) 信号转导系统是细胞因子信号转导的主要途径, 研究表明, HCV 对于肝细胞信号转导具有显著的影响^[3].

1 JAK-STAT 信号转导系统的组成和调节机制

在众多的细胞信号转导路径中, JAK-STAT 信号转导通路主要是负责细胞外多肽或细胞因子刺激信号通过跨膜受体的转导, 直接作用于细胞核中的基因的启动子序列, 不需要第二信使进行转录调节^[4]. 从进化角度, 从低级的真核细胞到人类, 这一信号转导通路都是高度保守的. JAK-STAT 信号转导通路似乎是细胞早期在适应细胞间信号转导过程中逐渐形成的. JAK-STAT 信号转导通路受到大量来自细胞内部和环境因素的影响.

在研究细胞因子信号转导的过程中发现了 JAK-STAT 系统. 细胞因子与相关的细胞膜上的特异性受体结合以后, 通过酪氨酸激酶 JAK 系统激活了 STATs. STATs 一旦被激活, 就形成同二聚体, 并且发生细胞内转位到细胞核内, 以对靶基因的表达进行调节^[5]. 过去几年中对于 JAK-STAT 信号转导途径进行了系统的研究, 鉴定了多种 STATs 和调节蛋白. 到目前为止, 在哺乳动物的细胞内总共鉴定了 7 种 STATs 蛋白, STATs 最主要的功能就是介导细胞因子的信号转导途径.

在细胞内部, 还存在着 JAK-STAT 信号转导系统的拮抗系统. 细胞因子信号转导抑制因子 (SOCS) 就是细胞

因子和生长因子信号通过 JAK-STAT 系统进行信号转导的抑制因子^[6]. 细胞因子通过 JAK-STAT 进行的信号转导, 调控一系列的生物应答, 包括免疫应答, 细胞生长与分化, 以及造血过程等. SOCS 家族由 8 种蛋白组成, 包括 CIS 蛋白, 以及 SOCS1-SOCS7. 这些蛋白分子的结构中部都有 SH2 结构域 (domain), 还有保守的 C-末端序列, 称为 SOCS 盒式 (box) 结构. 这些蛋白都有独特的 N-末端结构. 细胞因子和生长因子的刺激都能诱导 SOCS1-3 和 CIS 的表达, 抑制 JAK-STAT 介导的细胞因子信号转导, 形成了经典的负反馈环.

关于 JAK-STAT 信号转导系统的研究具有多方面的意义. JAK-STAT 信号转导途径在细胞因子的信号转导以及细胞发育和生存过程中具有十分重要的作用^[7,8]. Bhunia et al^[9] 研究了 JAK-STAT 信号转导系统异常与多囊肾疾病 (PKD) 之间的关系. 多囊肾疾病是一种常染色体显性遗传性疾病, 其特点就是在肾脏或其他器官中出现囊性改变, 原因就是 PKD1 或 PKD2 基因发生突变. 多囊蛋白 -1 (polycystin-1) 具有激活 JAK-STAT 信号转导的作用, 籍此也可以上调 p21/waf1 的表达, 并诱导产生细胞周期的 G0/G1 阻滞. 这一过程需要有多囊蛋白 -2 这种通道蛋白的参与, 这是一种重要的辅助因子. 基因突变造成多囊蛋白 -1/2 结合特点发生改变, 导致这一激活系统产生障碍. PKD1 基因敲除小鼠的胚胎 STAT1 蛋白磷酸化和 p21/waf1 的诱导过程有显著障碍. 这些结果表明, 多囊蛋白 -1/2 复合物的功能之一就是调节 JAK-STAT 系统, 可以解释这些基因突变之后, 为什么会产生异常的生长调节.

为了阐明酒精性肝损伤的分子生物学机制, Chen et al^[10] 研究了酒精对于肝细胞中 JAK-STAT 急性调节作用. 以新鲜分离的大鼠肝细胞和 HepG2 细胞进行了研究. 新鲜分离的肝细胞受到急性酒精处理以后, 白介素 -6 (IL-6) 和 IFN- γ 即获的 STAT 信号受到抑制, 但对于培养的肝细胞和 HepG2 细胞, 乙醇脱氢酶 (ADH) 基因转导和细胞色素 P450 (2E1) 基因转导的 HepG2 细胞的信号转导系统没有影响. 酒精对于新鲜分离肝细胞的作用, 也不受 ADH 抑制因子 4-甲基吡唑 (4-MP) 的拮抗. 以乙醛或者过氧化氢急性作用于肝细胞, 也没有抑制 STAT 的信号转导系统. 进一步的研究结果表明, 对于这些抑制作用应答的缺失, 也不是由于肝细胞增生发生改变, 或者与胶原的接触有关.

2 丙型肝炎病毒核心蛋白与 JAK-STAT 信号转导

丙型肝炎病毒核心蛋白是 HCV 基因组编码的一种结构蛋白, 具有多种生物学调节作用, 与 JAK-STAT 信号转导系统的调节有密切的关系. JAK-STAT 信号转导系统是 IFN 和 I 型细胞因子广泛采用的信号转导途径. 这些细胞因子首先激活 JAK 激酶, 然后磷酸化和激活 STAT 蛋白. 在磷酸化和激活之前, STAT 蛋白存在与细胞质之中, 激活之后就发生细胞内转位, 到达细胞核中, 对

于肝细胞基因组的表达进行调控^[11]。研究发现, HCV 抑制 IFN 介导的 JAK-STAT 信号转导系统, 主要机制是阻断 IFN 刺激的基因因子 3(ISGF3)复合物的形成。但是其下游的信号转导通路以及主要的 HCV 蛋白类型目前还不是特别清楚。Basu et al^[12]对 HCV 核心蛋白对 IFN 和 IFN 介导的 JAK-STAT 信号转导的影响进行了研究。HCV 核心蛋白的表达对于 IFN 诱导的 STAT1 表达具有显著的下调作用, 凝胶迟滞分析(gel retardation assay)表明表达 HCV 核心蛋白的细胞, 受到 IFN 刺激后反式激活因子 GAF 和 ISGF3 的形成显著降低。蛋白表达和 RNase 保护研究结果表明, GAF 或 ISGF3 形成能力的降低, 与 STAT1 蛋白表达水平的降低有关。但这些信号转导途径的改变对于下游靶基因如 IFN 调节因子-1(IRF-1)、561 的表达没有显著影响。以 HCV 结构蛋白和非结构蛋白稳定转染的细胞, 也有类似的效应, 原因不清楚。

3 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 与 JAK-STAT 信号转导 Heim et al^[13]建立四环素应答元件严谨控制的 HCV 全长编码区表达型转染细胞系, 并研究了 HCV 蛋白对 IFN 介导的信号转导的影响。HCV 蛋白的表达, 强烈抑制 IFN 介导的 JAK-STAT 系统的信号转导。这种抑制作用与 STAT 酪氨酸磷酸化下游的信号转导途径有关, 而且对于 JAK-STAT 信号转导途径的抑制作用不仅限于 IFN , 而且可抑制白血病抑制因子(LIF)诱导 STAT3 的信号转导。但对于 TNF 诱导的转录因子 NF- κ B 的激活没有影响。HCV 干扰 IFN 介导的 JAK-STAT 信号转导, 与对 IFN 治疗的抗性作用无关, 而可能是与 HCV 感染后免疫逃逸以及慢性感染的形成过程有关。

HCV 亚基因组复制子(replicon)在肝细胞中的复制, 可刺激干扰素 β (IFN β)启动子, 并使人肝癌细胞系产生 IFN β 。研究发现, HCV RNA 的复制可激活 NF- κ B 和 IFN 调节因子(IRF-1)的激活和 DNA 结合功能^[14]。在细胞核中, 激活形式的 IRF-3 也增多。含有 HCV 复制子的肝癌细胞系, 由 IFN β 激活的一系列的抗病毒作用基因的基础表达水平都显著提高。HCV RNA 的复制, 可刺激细胞抗病毒机制, 并使细胞进入抗病毒状态。稳定的 HCV RNA 复制要面对一些抗病毒作用机制的应答, 提示 HCV 可能会编码一种或多种病毒蛋白, 克服细胞产生的这些抗病毒机制, 以形成慢性感染。

Pflugheber et al^[15]应用 HCV 亚基因组复制子细胞模型, 研究了 HCV-肝细胞之间的相互作用的可能机制。研究结果证实, HCV RNA 亚基因组的复制可刺激双链 RNA(dsRNA)的信号转导系统, 阻断 IRF-1 和 PKR 的信号转导, 与 dsRNA 结合以及抑制 dsRNA 对 PKR 的激活作用有关。NS5A 蛋白单独情况下就足以阻断 IRF-1 的激活以及 dsRNA 依赖性 IRF-1 基因表达的诱导。PKR 结合位点及其附近核苷酸序列的突变, 可以解除 NS5A 的这些抑制作用, 导致 IRF-1 表达水平升

高, HCV RNA 复制水平降低。这些研究结果表明在 dsRNA 信号转导中具有重要作用的 PKR, 以及病毒感染激活的 IRF-1 的功能异常, 是 HCV NS5A 阻断宿主抗病毒应答以及形成慢性感染的主要机制。HCV NS5A 具有通过氧化应激机制诱导细胞质中转录因子 NF- κ B 和 STAT-3 的作用^[16]。NS5A 可导致细胞内钙的异常。Ca²⁺ 所介导的信号触发线粒体活性氧成分的提高, 导致转录因子蛋白 NF- κ B 和 STAT-3 向细胞核内的转位。研究表明 NS5A 可以持续激活 STAT-3。在抗氧化剂吡咯烷二氨基甲酸酯(PDTC)、N-乙酰半胱氨酸(NAC)或 Ca²⁺ 螯合剂(EGTA-AM, TMB-8), 存在的条件下, NS5A 诱导的 NF- κ B 和 STAT-3 的激活作用消失。HCV NS5A 与对 IFN 的抗性有关, 其机制之一就是 NS5A 对于 IFN 诱导关键酶, 即双链 RNA 激活的蛋白激酶(PKR)抑制作用, 但 IFN 敏感和抵抗的 HCV NS5A 在 HeLa 细胞中对于 ISGF-3 的表达的影响没有显著的差别^[17]。NS5A 蛋白缺失氨基末端 110、222 和 334 个氨基酸残基, 以及羧基末端缺失 117、230 氨基酸残基时, 对于 IFN 诱导 ISGF-3 的表达也没有显著的影响。HCV NS5A 的表达也不影响 IFN 诱导的 STAT-1 酪氨酸磷酸化以及上调 PKR 及 MHC-I 抗原的表达。但 NS5A 可以诱导人细胞中 IL-8 mRNA 和蛋白的表达, 这一效应与体外 NS5A 抑制 IFN 的抗病毒作用有关。NS5A 可诱导 IL-8 启动子指导的报告基因的表达, 这种调节作用与 IL-8 启动子序列中 133 bp 的序列有关。氨基末端缺失 110、222 个氨基酸残基的 NS5A 突变体, 具有比全长 NS5A 更强的诱导 IL-8 启动子活性作用, 因为这种突变形式的 NS5A 蛋白更能分布在细胞核中。IL-8 启动子突变研究表明, NF- κ B 和 AP-1 转录因子的结合是 NS5A 对其进行调节的必要环节。因此, HCV NS5A 蛋白对于趋化因子的调节, 也是影响细胞对 IFN 敏感性的重要机制之一。

在 HCV 感染者外周血单个核细胞(PBMC)受到 IFN 的刺激以后, IRF-1 mRNA 和 IRF-1/IRF-2 比率较正常人显著升高。Sendai 病毒刺激以后, 正常人和 HCV 感染者的 PBMC 的 IRF-1、IRF-2 和 IFN mRNAs, 以及 IFN 蛋白表达水平也显著高于基础水平。自然感染 HCV 诱导 PBMC 的 IFN 5 表达水平升高。这些细胞体外感染 Sendai 病毒可以提高正常人和 HCV 感染者的 IFN 8 的表达水平。病毒感染诱导的 IFN 表达具有型特异性, 认为 HCV 感染可以特异性地诱导 PBMC 中 IFN 5 的表达^[18,19]。

4 参考文献

- 1 成军. 慢性病毒性肝炎发病机制的分子生物学研究. 世界华人消化杂志 2002;10:125-128
- 2 成军, 朱传琳. 丙型肝炎病毒感染慢性化的分子生物学机制. 国外医学病毒学分册 2000;7:29-32
- 3 Aaronson DS, Horvath CM. A road map for those who know JAK-STAT. *Science* 2002; 296:1653-1655
- 4 成军, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究进展. 国外医

- 学病毒学分册 2000;7:123-127
- 5 Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* 2002;285:1-24
 - 6 Cooney RN. Suppressors of cytokine signaling (SOCS): inhibitors of the JAK/STAT pathway. *Shock* 2002;17:83-90
 - 7 Schindler CW. Series introduction. JAK-STAT signaling in human disease. *J Clin Invest* 2002;109:1133-1137
 - 8 O'Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell* 2002;109(Suppl):S121-131
 - 9 Bhunia AK, Piontek K, Boletta A, Liu L, Qian F, Xu PN, Germino FJ, Germino GG. PKD1 induces p21 (waf1) and regulation of the cell cycle via direct activation of the JAK-STAT signaling pathway in a process requiring PKD2. *Cell* 2002;109:157-168
 - 10 Chen J, Clemens DL, Cederbaum AI, Gao B. Ethanol inhibits the JAK-STAT signaling pathway in freshly isolated rat hepatocytes but not in cultured hepatocytes or HepG2 cells: evidence for a lack of involvement of ethanol metabolism. *Clin Biochem* 2001;34:203-209
 - 11 Leonard WJ. Role of Jak kinases and STATs in cytokine signal transduction. *Int J Hematol* 2001;73:271-277
 - 12 Basu A, Meyer K, Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus core protein modulates the interferon-induced transacting factors of Jak/Stat signaling pathway but does not affect the activation of downstream IRF-1 or 561 gene. *Virology* 2001;288:379-390
 - 13 Heim MH, Moradpour D, Blum HE. Expression of hepatitis C virus proteins inhibits signal transduction through the Jak-STAT pathway. *J Virol* 1999;73:8469-8475
 - 14 Fredericksen B, Akkaraju GR, Foy E, Wang C, Pflugheber J, Chen ZJ, Gale MJ. Activation of the interferon-beta promoter during hepatitis C virus RNA replication. *Viral Immunol* 2002;15:29-40
 - 15 Pflugheber J, Fredericksen B, Sumpter R J, Wang C, Ware F, Sodora DL, Gale M Jr. Regulation of PKR and IRF-1 during hepatitis C virus RNA replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:4650-4655
 - 16 Gong G, Waris G, Tanveer R, Siddiqui A. Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT-3 and NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:9599-9604
 - 17 Polyak SJ, Khabar KS, Paschal DM, Ezelle HJ, Duverlie G, Barber GN, Levy DE, Mukaida N, Gretch DR. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J Virol* 2001;75:6095-6106
 - 18 Heim MH. Intracellular signalling and antiviral effects of interferons. *Dig Liver Dis* 2000;32:257-263
 - 19 Larrea E, Alberdi A, Castelruiz Y, Boya P, Civeira MP, Prieto J. Expression of interferon-alpha subtypes in peripheral mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C: a role for interferon-alpha5. *J Viral Hepat* 2001;8:103-110

丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统

成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳

成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039
国家自然科学基金资助项目, No. C39970674, C03011402
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283
收稿日期: 2002-10-29 接受日期: 2002-11-18

成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统. 世界华人消化杂志 2003;11(4):466-469
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/466.htm>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)是一种正链 RNA 病毒, 其致病机制与 DNA 病毒和逆转录病毒有明显的区别^[1]. 在病毒的生活周期中, HCV 基因组编码多种结构和非结构蛋白, 自身结合形成同二聚体形式, 或与其他 HCV 病毒蛋白、细胞蛋白结合形成异二聚体, 甚至是多聚体形式在肝细胞内存在^[2]. 另外, 不同的磷酸化形式, 还可以发生细胞内转位, 对细胞的功能与调节产生影响. 在肝细胞质、细胞核中的 HCV 蛋白对肝细胞正常的信号转导通路进行干扰, 这是 HCV 致病机制的重要组成部分^[3]. 丝裂原激活蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(MAPK/ERK)及其介导的细胞内信号转导是 HCV 蛋白作用的重要靶位, 了解 HCV 蛋白对 MAPK 信号转导通路的影响, 对于 HCV 慢性感染的形成, 甚至是 HCV 相关的肝细胞癌(HCC)的发生机制的研究具有重要意义^[4].

1 HCV 的包膜蛋白与 MAPK 信号转导

关于 HCV 受体的研究目前还没有定论, HCV 受体究竟是单一受体, 还是象人免疫缺陷病毒-1(HIV-1)那样具有主要受体和辅助受体目前尚不清楚^[5]. 目前的研究焦点是 CD81 低密度脂蛋白受体(LDL-R)等. 在四跨膜分子 CD81、CD81 分子在人肝细胞等细胞膜的表面表达, 这种蛋白与细胞内信号转导过程有关. 最近的研究结果表明人细胞膜上 CD81 的表达与 HCV 包膜糖蛋白 E2 及其进入肝细胞中的过程有关^[6]. 因此, CD81 分子作为 HCV 感染肝细胞的受体分子而得到广泛的关注. HCV E2-CD81 分子之间的相互作用与 HCV 感染及其致病机制密切相关, MAPK/ERK 与细胞的增生和组织的增生过程密切相关. 为了研究 HCV 对于 MAPK/ERK 的调节, Zhao et al^[7]应用人肝癌细胞系 HepG2 进行了研究. CD81 在 HepG2 细胞膜表面有一定水平的表达, 通过流式细胞学的免疫荧光技术的检测得到了证实. HepG2 细胞以不含胎牛血清(FCS)的 DMEM 培养基培养, 7 h 后, 以 HCV E2 蛋白处理不同的时间. 细胞内 MAPK/ERK 的状态以 Western blot 杂交、免疫组织化学和免疫荧光技术进行研究. HepG2 细胞中 MAPK/ERK 蛋白在受到 HCV E2 蛋白的刺激以后发生磷酸化修饰, 而且 MAPK/ERK 的磷酸化与作用的 HCV E2 蛋白的浓度有关, 是一种剂量和时间依赖性的效应. MAPK/ERK 在 HepG2 受到 HCV E2 蛋白的刺激后被激活, 表明 HCV E2-CD81 作用参与了细胞内信号转导, 可能在 HCV 感染的致病过程中发挥重要作用.

2 HCV 核心蛋白与 MAPK 信号转导

为了研究 HCV 的恶性转化作用, Tsuchihara et al^[8]建立了稳定表达 HCV 核心蛋白的 BALB/3T3 A31-I-1 细胞系, 这一细胞系在受到 HCV 核心蛋白与 v-H-ras 的基因共转染时, 就失去生长接触抑制, 发生形态学改变, 呈现非贴壁生长, 而且出现非血清依赖性生长的特点. 表



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

